

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ  
УЗБЕКИСТАН**

**РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ЭКСТРЕННОЙ  
МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ**

**ЦЕНТР РАЗВИТИЯ ПОВЫШЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ  
МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ**

**"УТВЕРЖДАЮ"**  
**Председатель Научно-технического совета  
при Министерстве здравоохранения РУз  
д.м.н. Атаджанов Ш.К.**

---

**ВОПРОСЫ ПАТОГЕНЕЗА, РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ,  
ПРОФИЛАКТИКИ И ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ ОСТРОЙ  
ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**

(монография)

**Ташкент 2025**

**Основное учреждение:** Республиканский научный центр экстренной медицинской помощи

**Разработчик:** коллектив фундаментального гранта РНЦЭМП ФЗ – 2020100418 «Изучение закономерностей развития и патогенетическое обоснование применения клеточных технологий при печеночной недостаточности».

**Составители:**

**Хаджибаев А.М.** – д.м.н., профессор, руководитель фундаментального гранта РНЦЭМП ФЗ – 2020100418, заведующий кафедрой «Экстренная медицинская помощь» ЦРПКМР

**Туляганов Д.Б.** - д.м.н., г.н.с. фундаментального гранта РНЦЭМП ФЗ – 2020100418, генеральный директор РНЦЭМП

**Стопницкий А.А.** – к.м.н., с.н.с. фундаментального гранта РНЦЭМП ФЗ – 2020100418, руководитель научно-клинического отдела токсикологии РНЦЭМП

**Фаязов А.Д.** – д.м.н., профессор, г.н.с. фундаментального гранта РНЦЭМП ФЗ – 2020100418, руководитель научно-клинического отдела комбустиологии РНЦЭМП.

**Далимова Д.А.** – заместитель директора по науке Центра передовых технологий при Агентстве Инновационного Развития Республики Узбекистан

**Баев А.Ю.** – с.н.с. лаборатории экспериментальной биофизики Центра передовых технологий при Агентстве Инновационного Развития Республики Узбекистан

**Ибрагимова Ш.Н.** - младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии Центра передовых технологий при Агентстве Инновационного Развития Республики Узбекистан

**Рецензенты:**

**Шарипова В.Х.** – д.м.н., профессор, заведующая кафедрой Анестезиологии-реаниматологии ЦРПКМР

**Салимов У.Р.** - д.м.н., руководитель программы трансплантации печени РНЦЭМП

Утверждено на заседании Ученого Совета РНЦЭМП МЗ РУз №\_5\_\_ от \_\_\_2 декабря\_ 2025 г.

Директор РНЦЭМП

д.м.н., профессор Алимов Д.А. \_\_\_\_\_

Монография содержит сведения о патогенезе, диагностике, профилактике и интенсивной терапии острой печеночной недостаточности, а также новые данные об токсических гепатитах при экзогенной и эндогенной интоксикации, механизмах развития печеночной энцефалопатии, с учетом многолетнего опыта сотрудников научно-клинических отделов токсикологии, комбустиологии, хирургии РНЦЭМП. Монография предназначена для курсантов кафедр «Экстренная медицинская помощь» «Анестезиология и реаниматология», врачей лабораторной и инструментальной диагностики, реаниматологов, гепатологов, токсикологов, сотрудников и студентов медицинских институтов.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ:</b> .....	<b>5</b>
<b>Предисловие.</b> .....	<b>6</b>
<b>Глава I. Современные представления об этиологии, патогенезе развития, симптоматике, диагностике и интенсивной терапии острой печеночной недостаточности.</b> .....	<b>7</b>
1.1. Определение острой печеночной недостаточности. ....	7
1.2. История вопроса. ....	8
1.3. Этиология и эпидемиология острой печеночной недостаточности. ....	10
1.4. Современные представления о патогенезе острой печеночной недостаточности. ....	21
1.5. Классификация, клиническая картина и вопросы ранней диагностики ОПечН. ....	25
1.6. Интенсивная терапия. ОПечН. ....	32
1.7. Теоретическое обоснование новой концепции острой печеночной недостаточности. ....	35
<b>Глава II. Изучение роли митохондриальной дисфункции в патогенезе развития острой печеночной недостаточности и пути её коррекции в эксперименте.</b> .....	<b>38</b>
2.1. Материал и методы исследования.....	39
2.2. Клиническая и лабораторная характеристика животных. ....	45
2.3. Изучение клеточного дыхания у лабораторных животных. ....	48
2.3.1. Выделение митохондрий. ....	48
2.3.2 Измерение окислительного фосфорилирования митохондрий. ....	49
2.3.3. Изучение мембранного потенциала митохондрий. ....	51
2.3.4. Изучение митохондриального пула NADH и FAD <sup>+</sup> при острой тетрахлорметановой модели патологии печени. ....	53
Выводы по главе.....	57

<b>Глава III. Изучение ранних предикторов развития острой печеночной недостаточности при острых отравлениях и эндотоксикозах. ....</b>	<b>59</b>
3.1. Материал и методы. ....	59
3.2. Результаты исследования. ....	61
Выводы. ....	83
<b>Глава IV. Применение алгоритмов искусственного интеллекта в определении тяжести поражений печени и прогнозировании развития острой печеночной недостаточности при острых отравлениях и эндотоксикозах. ....</b>	<b>85</b>
4.1. Разработка компьютерного онлайн алгоритма диагностики и интенсивной терапии токсических поражений печени при острых отравлениях и эндотоксикозах. ....	85
4.2. Разработка онлайн калькулятора прогнозирования острой печеночной недостаточности. ....	95
Выводы. ....	103
<b>Глава V. Разработка новой клинической классификации острой печёночной недостаточности по стадиям. ....</b>	<b>105</b>
5.1. Обоснование новой классификации острой печёночной недостаточности: анализ исторических подходов и современных диагностических критериев. ....	105
5.2. Клиническая классификация стадий ОПечН (РНЦЭМП). ....	107
Выводы. ....	111
<b>Глава VI. Вопросы интенсивной терапии токсических поражений печени и профилактики развития острой печеночной недостаточности. ....</b>	<b>113</b>
6.1. Материал и методы. ....	113
6.2. Результаты исследования. ....	116
Выводы. ....	123
<b>Заключение. ....</b>	<b>124</b>
<b>Список литературы. ....</b>	<b>128</b>

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ:

АлТ Аланинаминотрансфераза

АсТ Аспартатнаминотрансфераза

ВГА Вирусный гепатит А

ВГВ Вирусный гепатит В

ЛДГ Лактатдегидрогеназа

МНО Международное нормализованное отношение

ОПечН Острая печеночная недостаточность

ПН Печеночная недостаточность

ТП Трансплантация печени

ТГ Токсический гепатит

ПЭ Печеночная энцефалопатия

ПЦР Полимеразная цепная реакция

ЩФ Щелочная фосфотаза

GSTs Глутатион-S-трансфераза

CYP2C19 Цитохром-Р-450

FAD Флавадениндинуклеотид

NADH Никотинамидадениндинуклеотид восстановленный

## Предисловие.

Дорогие коллеги!

Острая печёночная недостаточность (ОПечН) остаётся одной из наиболее драматических и сложных проблем современной клинической медицины, представляя собой критическое состояние, при котором в течение короткого времени утрачиваются основные детоксикационные, метаболические и синтетические функции печени. Несмотря на достижения в области интенсивной терапии, трансплантологии и молекулярной биологии, показатели летальности при данном синдроме по-прежнему остаются высокими, особенно в странах с ограниченными ресурсами и поздней диагностикой. Монография посвящена всестороннему анализу этиологических факторов, патогенетических механизмов, современных методов диагностики и лечения острой печёночной недостаточности, а также поиску новых прогностических маркеров и терапевтических подходов, основанных на принципах доказательной медицины.

В последние годы всё больше внимания уделяется ранней стратификации риска и применению мультидисциплинарных стратегий ведения больных. Развитие биохимических и молекулярно-генетических методов позволило глубже понять механизмы клеточного повреждения, роль оксидативного стресса, гипоксии, митохондриальной дисфункции и системного воспаления в развитии полиорганной недостаточности, сопровождающей ОПечН. Особое значение придаётся изучению генетических полиморфизмов ферментов биотрансформации, иммунных нарушений и микрососудистых расстройств, определяющих индивидуальную реакцию организма на токсическое воздействие.

Настоящая работа обобщает многолетний опыт отечественных и зарубежных исследователей, результаты клинических наблюдений и экспериментальных исследований, выполненных в ведущих центрах токсикологии, реаниматологии и гепатологии. Большое внимание уделено анализу собственных данных, что особенно важно для формирования национальных подходов к диагностике и терапии острой печёночной недостаточности.

Монография адресована врачам-клиницистам, анестезиологам-реаниматологам, токсикологам, гепатологам, патофизиологам, а также научным сотрудникам и студентам медицинских вузов. Автор выражает надежду, что представленная работа будет способствовать углублению понимания сложных патофизиологических процессов, лежащих в основе ОПечН, и станет стимулом к дальнейшему развитию научных исследований и совершенствованию клинической практики в этой жизненно важной области медицины.

Председатель Ассоциации врачей экстренной медицинской помощи, д.м.н.  
профессор

Хаджибаев А.М.

# **ГЛАВА I. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ЭТИОЛОГИИ, ПАТОГЕНЕЗЕ РАЗВИТИЯ, СИМПТОМАТИКЕ, ДИАГНОСТИКЕ И ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ ОСТРОЙ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ.**

## **1.1. Определение острой печеночной недостаточности.**

Острая печеночная недостаточность (ОПН) характеризуется острым, быстро прогрессирующим поражением печени с высоким процентом летальных исходов [2, 13, 18, 26, 43, 93, 95, 96, 97]. С учетом идентичности аббревиатуры с русскоязычным сокращением острой почечной недостаточности (ОПН) во избежание путаницы в терминах мы в дальнейшем будем использовать сокращение ОПечН.

Традиционное представление об острой печеночной недостаточности (ОПечН) характеризует данную патологию как опасное для жизни состояние, которое возникает у пациентов без предшествующего заболевания печени и проявляется поражением печени в виде значительного отклонения от нормы печеночных тестов, коагулопатией (международное нормализованное отношение, МНО > 1,5) и печеночной энцефалопатией (ПЭ). ОПечН имеет множество этиологических факторов и множество клинических проявлений, которые могут поражать практически все системы органов. [18, 26, 43, 45, 78, 92, 106, 114, 115, 116].

Первое определение ОПечН дали Trey и Davidson в 1970 г. Согласно их трактовке, ОПечН – это потенциально обратимое состояние, являющееся результатом тяжелого поражения здоровой печени и приводящее к развитию печеночной энцефалопатии в течение 8 нед после ранних клинических проявлений [87]. В литературе нарушения функции печени, а также клинические и лабораторные проявления, которые возникают при этом, интерпретируют по-разному. Более того, представление об ОПечН у авторов разнится [12,13]. Э.И. Гальперин и соавт. (2012) выдвинули концепцию ОПН в качестве состояния, проявляющегося в виде нарушения работы собственно печеночной ткани и включающего расстройство, связанные с поражением

головного мозга, исходом которого может стать развитие печеночной комы [5]. Часто термин ОПечН используется некорректно. Например, для описания острого ухудшения синтетической функции печени на фоне уже имеющегося хронического заболевания или при сочетании коагулопатии с высоким уровнем аминотрансфераз и билирубина, снижением ментальной функции, которые возникают при ряде системных заболеваний. В этих ситуациях дифференциально-диагностический процесс бывает крайне затруднителен. Однако следует учитывать, что это разные состояния, требующие от клинициста разного подхода к терапии [5].

Таким образом современные представления об острой печеночной недостаточности характеризуют ее как манифестацию тяжелого, декомпенсированного поражения печени различной этиологии или как компонент полиорганной недостаточности при критических состояниях [26, 78, 79, 98, 100, 105, 106].

Однако, при таком представлении об ОПечН, практикующий врач экстренной медицины реагирует на ее развитие достаточно поздно, когда уже требуется медикаментозное протезирование органа или его хирургическая замена. Тем самым значительно сужается возможность провести адекватную профилактику данного состояния.

Поэтому назрела необходимость кардинального пересмотра самого понятия ОПечН, более углубленного развития изучения закономерностей ее развития, поиска ранних маркеров поражения печени, которые позволят провести профилактику ОПечН или ее лечение на субклинической стадии [18, 92, 109].

## **1.2. История изучения острой печеночной недостаточности.**

История изучения ОПечН охватывает более двух столетий и тесно связана с развитием клинической медицины, патологической анатомии и биохимии [13]. Первые упоминания о внезапной потере функции печени встречаются ещё в трудах XIX века, когда врачи описывали случаи стремительно развивающейся желтухи, кровоточивости и комы, исход

которых нередко был летальным. Однако вплоть до середины XX века данное состояние рассматривалось как осложнение различных заболеваний печени, прежде всего вирусных гепатитов и отравлений, а не как самостоятельный синдром. В 1940–1950-х годах, с накоплением клинических наблюдений, стало очевидно, что в ряде случаев развитие печёночной комы происходит у ранее здоровых людей вследствие молниеносного разрушения паренхимы печени, и термин «fulminant hepatic failure» прочно вошёл в медицинскую литературу [28, 30].

Значительный вклад в формирование современных представлений о патогенезе острой печёночной недостаточности внесли работы британских исследователей Sheila Sherlock и Roger Williams, которые в 1960-х годах систематизировали данные о причинах, стадиях и клинических проявлениях заболевания [95]. Именно в этот период были сформулированы диагностические критерии, включающие развитие энцефалопатии в течение 8 недель от начала заболевания при отсутствии ранее известного хронического поражения печени. В то же время началось активное изучение биохимических механизмов детоксикационной функции печени, обмена аммиака, роли глутамина, митохондриальной дисфункции и нарушений энергетического метаболизма гепатоцитов [13, 95].

Параллельно развивалась трансплантология: в 1963 году Т. Старзл выполнил первую успешную трансплантацию печени, что стало переломным моментом в лечении терминальных форм острой печёночной недостаточности. Это событие стимулировало поиск методов временной поддержки функции печени, включая гемосорбцию, плазмаферез, перфузию через изолированную печень животных, а позднее — развитие систем «искусственной печени» и биогибридных устройств [27, 95].

В 1970–1980-х годах внимание исследователей сосредоточилось на иммунных и воспалительных механизмах поражения печени. Были описаны цитокиновые каскады, механизмы апоптоза и некроза гепатоцитов, роль эндотелиальной дисфункции и нарушения микроциркуляции. В это же время

понятие «острая печёночная недостаточность» было дополнено категориями «субмолниеносная» и «подострая» в зависимости от длительности развития симптомов [27, 95, 115].

С начала XXI века, благодаря развитию молекулярной биологии и геномных технологий, изучение проблемы получило новое направление. Открытие полиморфизмов генов, кодирующих ферменты биотрансформации (CYP450, GST, UGT), антиоксидантные системы (SOD, GPX, CAT), а также участие митохондриальных белков в клеточной гибели позволило глубже понять индивидуальную предрасположенность к развитию острой печёночной недостаточности при токсических и лекарственных воздействиях. Особое внимание стало уделяться роли гипоксии и нарушений энергетического обмена, влиянию микробиоты кишечника, а также механизмам регенерации печени и возможностям применения стволовых клеток [1, 69, 95, 115].

Сегодня история изучения острой печёночной недостаточности продолжается на новом уровне, объединяя фундаментальные исследования, клиническую практику и инновационные технологии. Эволюция представлений — от описания отдельных клинических случаев до молекулярного анализа патогенеза — отражает путь, пройденный медицинской наукой от эмпирических наблюдений к целенаправленному поиску терапевтических решений. Каждое десятилетие вносило новые знания, но основная цель оставалась неизменной — понять механизмы, лежащие в основе этого тяжёлого синдрома, и найти способы спасти жизнь пациентов, у которых печень перестала выполнять свою жизненно важную функцию [95].

### **1.3. Этиология и эпидемиология острой печеночной недостаточности.**

#### *Этиология ОПечН.*

Наиболее частыми причинами ОПечН у взрослых являются медикаментозные и вирусные повреждения печени. Так, в Австралии, Дании, Великобритании и США в качестве основного этиологического фактора ОПечН выступает ацетаминофеновая токсичность, в то время как в странах Азии и некоторых странах Европы – гепатотропные вирусы [5, 6]. В качестве

примера: в США в период между 1998 и 2018 гг. зарегистрировано 2147 случаев развития ОПечН, причинами которой были передозировка ацетаминофена (46%), идиосинкразические реакции на лекарственные препараты (12%), вирус гепатита В (7%), вирус гепатита А (3%), а в 14% случаев причина ОПечН не была установлена [56]. В Великобритании с 1973 по 2021 г. описано 4018 случаев ОПечН: 57% из них были индуцированы ацетаминофеном, 9% – вирусами гепатита В и D [6]. В то же время во Франции из описанных 1502 случаев ОПечН в период с 1972 по 2020 г. 45% были связаны с вирусами гепатита В и D и только 2% – с воздействием ацетаминофена [6, 33, 51, 55, 77]. Похожая статистика наблюдалась в Японии, где с 1998 по 2019 г. зарегистрировано 1856 случаев ОПечН, в развитии которой в 51% случаев участвовали гепатотропные вирусы (42% – вирус гепатита В), и 10% были обусловлены воздействием лекарственных препаратов (включая ацетаминофен) [6, 33].

- вирусные гепатиты. В развитии ОПечН основная роль отводится вирусам гепатита А, Е, В, D и С, в меньшей степени – герпесвирусам (цитомегаловирусу, вирусу Эпштейна – Барр, вирусам герпеса 1, 2, 3 типов). В литературе описаны клинические случаи, когда тяжелое повреждение печени было вызвано аденовирусами [53, 69, 80]. Вирусы гепатита А (ВГА) и Е (ВГЕ) имеют фекально-оральный механизм передачи. Наиболее часто тяжелое повреждение печени наблюдается в эндемичных регионах. В США на долю ОПечН, вызванной ВГА, приходится до 4% случаев [53, 83, 85]. ВГЕ обуславливает развитие ОПечН преимущественно у беременных женщин в эндемичных странах, увеличивая смертность от данной патологии от 15% до 25% [10]. Во многих других регионах, не считающихся эндемичными, роль данного вируса в поражении печени, в том числе в развитии ОПечН, по-видимому, пока еще не до конца изучена. Так, по данным литературы, в странах Европы при расшифровке этиологии криптогенной ОПечН у госпитализированных пациентов ВГЕ был выявлен в 10% случаев [83]. В некоторых азиатских, средиземноморских странах и странах Европы наиболее

частой причиной развития ОПечН считается вирус гепатита В (ВГВ) [69]. В США на долю ВГВ приходится до 8% всех случаев ОПечН [69]. Вирус гепатита D вызывает ОПечН чаще в случаях коинфекции с ВГВ. До сих пор остается предметом дискуссии вопрос о том, может ли ОПЕЧН вызываться вирусом гепатита С (ВГС) [80]. К редким возбудителям, способным индуцировать развитие ОПечН, относятся цитомегаловирус (описано развитие ОПЕЧН у реципиента после трансплантации печени (ТП) на фоне приема иммуносупрессивной терапии, который был инфицирован вирусом ранее) и вирус Эпштейна – Барр [89, 95]. В литературе встречаются указания на ОПечН, вызванную вирусами герпеса 1, 2 и 3 типа, в основном у лиц с иммуносупрессией на фоне приема глюкокортикоидов, у пациентов с онкологическими заболеваниями, ВИЧ-инфекцией, миелодиспластическим синдромом, после ТП (чаще с одновременным поражением других органов ЖКТ и легких), у беременных женщин и крайне редко – у иммунокомпетентных лиц [53, 69]. При этом герпетические высыпания на коже встречались только в 50% описанных случаев. В литературе существуют указания на развитие ОПечН, вызванной аденовирусами группы С тип 5 и парвовирусом В19, также у пациентов с иммуносупрессией [89].

- алкогольное поражение печени развивается при употреблении гепатотоксичных доз спиртных напитков, в основном при длительном хроническом его употреблении. Основным патогенетическим механизмом развивающихся алкогольных поражений печени служит прямое токсическое действие алкоголя на гепатоциты [13, 67]. Попадающий в организм этанол проходит ряд метаболических изменений и превращается в ацетальдегид. Накопление в клетках продуктов распада алкоголя способствует перекисному окислению липидов, нарушениям транспорта веществ в митохондриях, декомпенсации восстанавливающих систем и стимулирует синтез коллагена звездчатыми клетками, приводя к развитию фиброза и цирроза печени [1, 10, 13, 14]

- лекарственные препараты и токсины вызывают развитие ОПЕЧН в 5–

18% случаев. Токсическое воздействие на печень могут оказывать многие соединения, попадающие в организм в больших количествах (дозозависимая токсичность), но у некоторых пациентов – и в терапевтических дозах (идиосинкразическая гепатотоксичность). Описаны клинические случаи возникновения ОПечН после приема некоторых пищевых добавок и лекарственных растений. Одним из наиболее широко используемых во всем мире лекарственных средств является ацетаминофен (парацетамол) [5, 6]. Известно, что к развитию гепатотоксичности приводит однократная доза препарата  $\geq 10$  г. Случаи попадания токсических концентраций ацетаминофена в организм описаны чаще при приеме препарата с суицидальной целью или при одновременном его назначении с комбинированными лекарственными средствами, в состав которых входил ацетаминофен, а также при неконтролируемом применении последнего с целью обезболивания [6, 56]. Редкие случаи ОПечН наблюдались у пациентов при приеме и более низких доз ацетаминофена (например, 3–4 г/сут): при длительном употреблении алкоголя или приеме лекарственных средств, которые стимулируют систему цитохрома P450 (в частности изофермент CYP2E1), например, противосудорожных препаратов. Идиосинкразическая ПН в большинстве случаев развивается в течение первых 6 месяцев с момента начала приема препарата. Лекарства (даже потенциально токсичные), которые принимаются пациентами длительно (в течение 1–2 лет и более), обычно не бывают причиной острого (de novo) повреждения печени [15, 33, 56, 65]. Поражение печени, обусловленное передозировкой парацетамола, клинически характеризуется высоким подъемом активности aminотрансфераз ( $>10000$  ME/мл) при нормальном уровне билирубина. При поступлении пациентов в раннем периоде заболевания (когда в крови еще определяется высокая концентрация парацетамола) наблюдается повышение уровня лактата при незначительном повышении активности aminотрансфераз, минимальной коагулопатии или ее отсутствии [6, 65]. В дальнейшем развивается и быстро прогрессирует ОПечН, полиорганная недостаточность, и за несколько часов

состояние пациентов прогрессирует от комы I до комы IV. При токсичности, обусловленной постепенным неконтролируемым приемом препарата, повышение аминотрансфераз менее значительно, но часто имеется более выраженная ПН. У больных, не соответствующих критериям кандидатов на экстренную ТП, выживаемость, по последним данным, остается на уровне 20–40%, даже при современных методах интенсивной терапии. В то же время есть данные о значительно более благоприятном исходе консервативного лечения, несмотря на неблагоприятные прогностические факторы [5, 6].

Клиническая картина поражения печени при передозировке парацетамола отличается от проявлений токсического действия других лекарственных средств. При развитии гепатотоксичности последних отмечаются более низкие уровни аминотрансфераз, более высокие показатели билирубина, реже развивается дисфункция других органов. Нарушения функции печени могут носить смешанный или холестатический характер. И поскольку особенности гибели печеночных клеток зависят от воздействующего на них этиологического фактора, подходы к лечению для улучшения репарационных процессов и регенерации печени могут быть разными [4, 75, 76, 77, 89]. ОПечН, обусловленная воздействием других лекарственных препаратов, развивается в 10% случаев, при этом 80% эпизодов приводят к летальному исходу или требуют проведения экстренной ТП [52, 89]. Чаще возникает у лиц после 60 лет [89]. Клинически гепатоцеллюлярное поражение носит характер острой ПН, при холестатическом характере – подострой ПН, а сверхострое течение наблюдается менее чем в 1/3 случаев [6]. Чаще всего сверхострую ПН вызывает употребление экстази (3,4-метилendioкси-N-метамфетамин). Клиническая картина характеризуется гипертермией, выраженным нарушением гемостаза, тяжелым рабдомиолизом и полиорганной дисфункцией, которая в первые дни является большей угрозой, нарушение функции печени [6, 56, 65, 90].

Часто ОПечН развивается при приеме пациентами противотуберкулезных препаратов (например, изониазида) [56, 65, 92],

нитрофурантоина, кетоконазола, фенитоина, вальпроата, нестероидных противовоспалительных средств и целого ряда препаратов других групп [56, 65, 90]. В редких случаях причиной поражения печени бывает гипоперфузия, вызванная приемом ниацина пролонгированного действия, кокаина или метамфетамина. Для острого ишемического поражения, вызванного этими препаратами, характерен высокий уровень аминотрансфераз и лактатдегидрогеназы, быстро нарастающее увеличение протромбинового времени, повышение уровня сывороточного креатинина. Все показатели быстро нормализуются после стабилизации гемодинамики [6, 90]. Как и при гипоксических гепатитах другой этиологии, в большинстве случаев необходимости в ТП не возникает. С целью установления/исключения воздействия лекарственного средства как этиологического фактора развития ОПечН в первые минуты общения с пациентом следует подробно собрать анамнез. Поскольку ОПечН может развиваться спустя несколько недель после проведения терапии, то собираются сведения обо всех рецептурных и безрецептурных лекарственных средствах, витаминах, растительных препаратах и пищевых добавках, которые пациент принимал в течение последних 6 месяцев [90].

Кроме того, следует исключить другие причины тяжелого поражения печени. Отравление грибами в 95% случаев обусловлено *Amanita phalloides* и *Galerina* и ежегодно служит причиной смерти сотен людей в странах Европы и США. *Amanita* содержат два токсина: фаллоидин и  $\alpha$ -аманитин (оба являются гепатотоксичными). Отравление обусловлено преимущественно  $\alpha$ -аманитином, который обладает дозозависимым, прямым гепатотоксическим действием на печень, нарушая синтез мРНК в гепатоцитах [70]. Тестов для подтверждения наличия токсинов этих грибов в крови не существует. Диагноз можно заподозрить по клинико-анамнестическим данным и развитию тяжелого кишечного синдрома, возникающего в течение нескольких часов после употребления в пищу грибов [11, 15, 70, 77]. Аутоиммунный гепатит проявляется ОПечН редко, но характеризуется тяжелым и

быстро прогрессирующим течением. Установить правильный диагноз помогает наличие гипергаммаглобулинемии, аутоантител в сыворотке крови, однако иногда последние могут отсутствовать, что затрудняет диагностику заболевания [70, 78]. Для подтверждения диагноза в ряде случаев необходимо применение пункционной биопсии печени.

Болезнь Вильсона – редкая причина ОПечН (2–3% случаев в США). По статистике, около 5% всех пациентов, поступающих для проведения ТП, переносят ОПЕЧН, связанную с данной патологией [72]. Болезнь Вильсона наблюдается чаще у лиц молодого возраста; чаще у женщин, чем у мужчин (с соотношением от 2:1 до 4:1 в разных регионах). ОПечН, развивающаяся на фоне болезни Вильсона, имеет молниеносное течение с высоким уровнем летальности и характеризуется рядом клинических особенностей. Начинается с внезапно возникающей гемолитической анемии (с отрицательной реакцией Кумбса), увеличения уровня билирубина (преимущественно за счет непрямой фракции) с низкими или нормальными значениями щелочной фосфатазы и умеренным повышением аминотрансфераз, мало характерным для ОПечН другой этиологии. Соотношение АСТ/АЛТ часто составляет  $>2$ . Развивающаяся коагулопатия не корректируется введением витамина К. Наблюдается быстрое прогрессирование почечной недостаточности. При установлении диагноза необходимо учитывать: уровень церулоплазмина (как правило, снижен, но в 15% бывает нормальным); содержание меди в сыворотке крови и в моче (как правило, высокое); соотношение общего билирубина и щелочной фосфатазы ( $>2$  – непрямой индикатор болезни Вильсона); наличие колец Кайзера – Флейшера; содержание меди в биоптате печени [11, 15, 72].

Тромбоз печеночных вен (синдром Бадда – Киари) – заболевание полиэтиологическое. Часто возникает у пациентов со злокачественными заболеваниями системы крови при проведении химиотерапии для подготовки к трансплантации костного мозга, при миелопролиферативном синдроме, дефиците фактора V, протеина C, протеина S или антитромбина III. В 20%

случаев синдром Бадда – Киари возникает у женщин, которые принимают контрацептивы (как минимум в течение 2 недель), у беременных и женщин в послеродовом периоде [45, 46]. У пациентов часто развиваются гепатомегалия, боли в животе, асцит. Диагноз может быть установлен при помощи компьютерной томографии (КТ), ультразвуковой доплерографии, магнитно-резонансной ангиографии. Может потребоваться проведение ТП [11, 15, 59].

Ишемическое повреждение печени и ОПЕЧН могут быть обусловлены кардиогенным шоком при остром инфаркте миокарда, длительным периодом сердечно-легочной реанимации при остановке сердца, периодом значительной гиповолемии/гипотензии или декомпенсацией хронической сердечной недостаточности [15]. Физикальные изменения у пациентов при этом могут отсутствовать или выявляться только на ЭКГ [15]. Обычно в сыворотке крови наблюдается значительное увеличение уровня аминотрансфераз с тенденцией к быстрому снижению при стабилизации гемодинамики. Прогноз у данного контингента пациентов определяют темпы коррекции сердечной недостаточности и устранение других причин ишемии [15].

Острая жировая печень беременных (HELLP-синдром) развивается у небольшого количества женщин в конце беременности, ассоциируется с увеличением материнской смертности и гибелью плода. Риск возникновения ОПЕЧН увеличивается при манифестации в этот период герпетической инфекции. Развивается триада симптомов: желтуха, коагулопатия, тромбоцитопения, иногда гипогликемия. Диагноз подтверждается выявлением стеатоза при морфологическом исследовании печени. Прогноз определяют ранняя диагностика и своевременно оказанная квалифицированная медицинская помощь. Восстановительный процесс после родов быстрый, но в некоторых случаях требуется проведение ТП уже в послеродовом периоде [15, 66, 77].

Опухолевое поражение печени наблюдается при раке молочной железы, мелкоклеточном раке легких, лимфоме, меланоме и может приводить к

развитию ОПечН. В связи с этим пациентам с ОПечН, у которых в анамнезе имелись злокачественные новообразования, для уточнения диагноза необходимо проведение тщательного обследования с использованием УЗИ и КТ внутренних органов, а также пункционной биопсии печени [15].

В 20–40% случаев этиология ОПечН остается невыясненной даже после тщательного клинического и лабораторного обследования. Таким пациентам должна быть проведена пункционная биопсия печени с иммуногистохимическим исследованием биоптата. При повышении активности aminотрансфераз в плазме крови и/или наличии синдрома холестаза в отсутствие явного первичного поражения печени пациента необходимо обследовать для выявления возможного вторичного поражения, что наблюдается при целом ряде заболеваний: сепсис [68], малярия, лептоспироз, риккетсиозы, гипертиреоз [68, 87], болезнь Стилла, гемофагоцитарный синдром [86]. При последних двух заболеваниях значительно повышается уровень ферритина, а при гемофагоцитарном синдроме – и уровень триглицеридов. В странах Азии и Африки встречаются случаи отравления желтым фосфором (обладает митохондриальной токсичностью), при котором развивается полиорганная недостаточность и нарушение функции печени.

#### Распространенность ОПечН в системе экстренной медицины Республики Узбекистан

В начале нашего исследования нами был проведен ретроспективный анализ 2069 больных поступивших с токсическими поражениями печени на фоне острых отравлений и эндотоксикозов (тяжелобожженные) за 2015-2019 гг, их них у 182 (8,8%) течение гепатита осложнилось ОПечН. Данные ретроспективной части исследования проанализированы по нозологическому составу, полу, возрасту. Исключены пациенты младше 18 лет, имеющие сопутствующие хронические вирусные заболевания и цирроз печени.

Всего за эти годы из общего количества 2204 пациентов с токсическими гепатитами 1890 больных были с острыми отравлениями гепатотоксичными

ядами, 179 пациентов с тяжелыми ожогами. Их распределение по годам представлено в диаграмме 1.1.



Рисунок 1.1 - Распределение больных с токсическими гепатитами по годам.

Из общего числа больных с токсическими гепатитами 1536 (74,3%) было мужчин, 533 (25,7%) женщины (диаграмма 1.2). Соотношение мужчин и женщин 2,29:1 ( $P < 0,05$ )

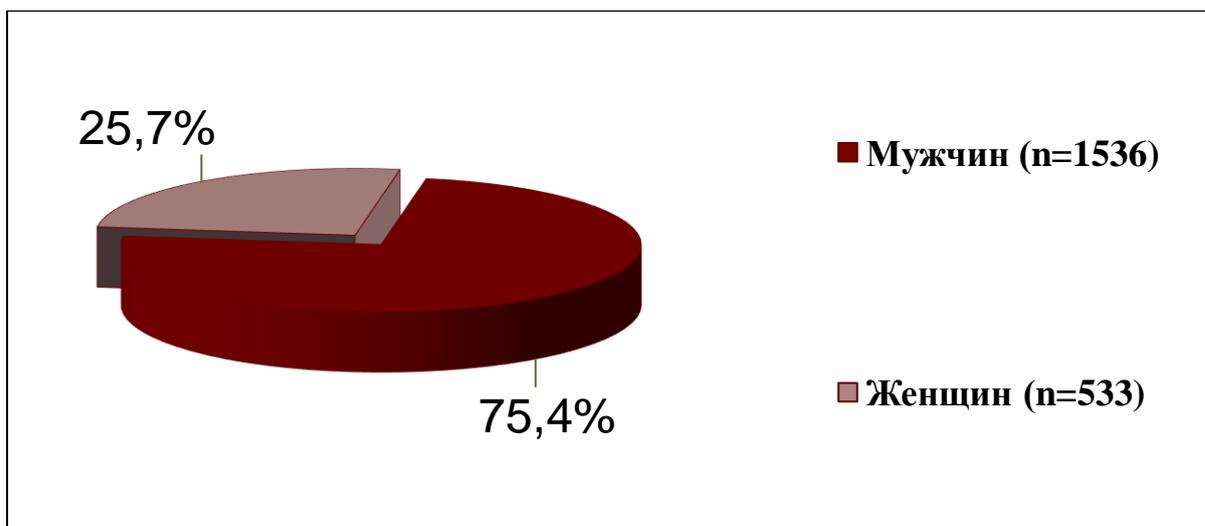


Рисунок 1.2 - Распределение больных по полу

Распределение больных по нозологиям указано в диаграмме 1.3.



Рисунок 1.3 - Распределение больных с токсическими гепатитами по основным нозологиям

Как видно на диаграмме у подавляющего большинства пациентов токсический гепатит развился на фоне алкогольной интоксикации – 1401 больной (67,7%), на втором месте были пациенты с отравлениями гепатотоксичными медикаментами - 325 (15,7%), затем больных токсическими гепатитами на фоне ожогов– 179 (8,1%) соответственно.

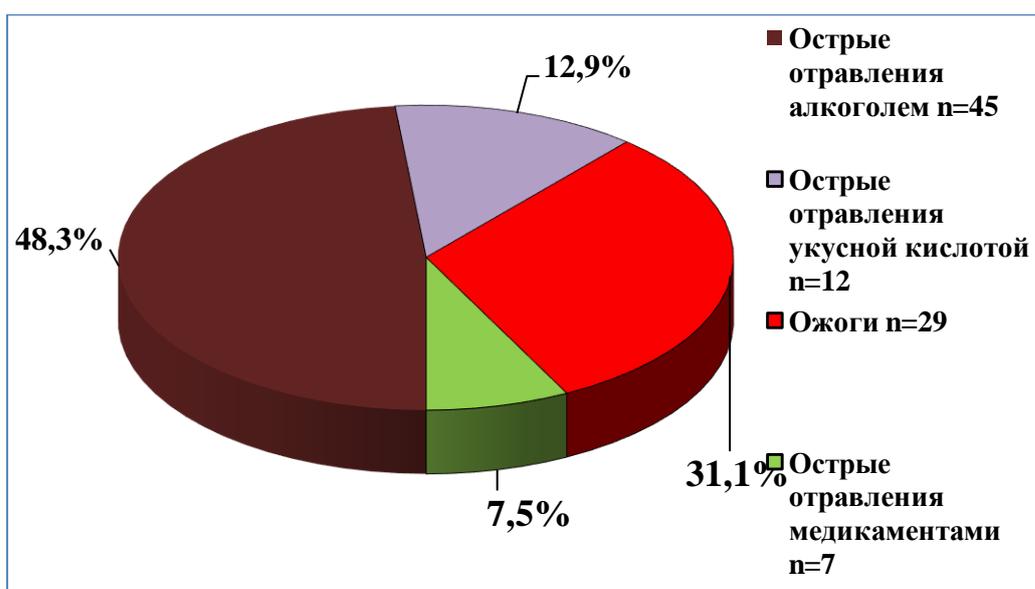


Рисунок 1.4 - Летальность от ОПечН в разрезе нозологий

У 182 (8,2%) больных на фоне токсических поражений печени развилась острая печеночная недостаточность умерло 93 (51% от общего числа больных с ОПечН). Данные летальности в разрезе нозологий представлены в диаграмме 1.4.

Согласно анализу летальности от ОПечН, больше всего умерло больных с алкогольной интоксикацией – 45 (48,3%), затем с ожогами – 29 (31,1%), и больные с отравлением уксусной кислотой - 12 (12,9%), при этом мы учитывали только тех пациентов смерть которых наступила именно за счет ОПечН.

Таким образом, проведенный нами ретроспективный анализ показал, что ОПечН является достаточно частым осложнением токсических поражений печени, отличается высокой летальностью, что соответствует данным других исследовательских центров

#### **1.4. Современные представления о патогенезе острой печеночной недостаточности.**

Современные представления о патогенезе острой печёночной недостаточности рассматривают этот синдром как многофакторный и многозвенный патологический процесс, исходящий из острого массивного поражения гепатоцитов и заканчивающийся системной полиорганной недостаточностью. С самого начала поражения печени — вне зависимости от этиологии — запускается каскад метаболических, сосудистых, иммунных и нейрометаболических нарушений. В классическом обзоре William Bernal и John Wendon (2013) отмечается, что ОПечН представляет собой «молниеносное повреждение гепатоцитов у пациента без ранее известного цирроза» с последующей коагулопатией и энцефалопатией [5, 10, 13, 27, 61, 74, 95, 115].

Первое ключевое звено — массивное гепатоцитарное повреждение, вызванное непосредственным действием токсинов (например, передозировка парацетамола), вирусным поражением или ишемией. Это повреждение приводит к некрозу или апоптозу значительной части печёночной паренхимы.

Сами гепатоциты теряют способность поддерживать синтетическую и детоксикационную функции, что выражается гипопропротеинемией, снижением факторов свертывания и накоплением метаболитов (Bernal W., Wendon J., 2013) [27, 74, 81, 115, 121].

В этом контексте особое значение приобретают механизмы митохондриальной дисфункции и оксидативного стресса. Повреждение митохондрий — снижение окислительного фосфорилирования, истощение АТФ, накопление свободных радикалов — создаёт энергетическую недостаточность и способствует апоптозу/некрозу гепатоцитов. Обзор Acute-on-chronic liver failure: Definitions, pathophysiology and principles of treatment подчёркивает, что митохондриальная потеря функции — центральный компонент патогенеза [121].

Оксидативный стресс, в свою очередь, повреждает липиды мембран, белки и ДНК клеток, активируя сигнальные пути клеточной гибели и провоцируя усиленное иммунное реагирование [95].

Затем развивается мощный воспалительный и иммунологический ответ. Повреждённые гепатоциты и эндотелиальные клетки высвобождают DAMP (damage-associated molecular patterns)-молекулы, которые активируют костномозговые и печёночные макрофаги (купферовские клетки) и другие иммунные клетки. Это запускает выброс провоспалительных цитокинов (например, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ ) и активацию сигнального пути NF- $\kappa$ B, что ведёт к усилению гепатоцитарного повреждения (Хаджибаев А.М. и соавт., 2018) [27].

Эту стадию можно рассматривать как «цитокиновый шторм» внутри печени и за её пределами, что способствует развитию системной воспалительной реакции (SIRS) и затем компенсаторной анти-воспалительной фазе, с риском иммунной супрессии и инфекционных осложнений (Shah N.J. 2023) [95].

Наряду с этим важным компонентом является нарушение микроциркуляции, эндотелиальной функции и появление гипоксии/ишемии в

печёночной ткани и других органах. В условиях массивного повреждения печени и системной воспалительной реакции наблюдается вазодилатация, снижение системного сосудистого сопротивления, гипотензия, застой в микроциркуляторном русле и гипоперфузия. В зоне печёночного ацинуса (особенно зона 3) это усугубляется, что приводит к дополнительной ишемической нагрузке на гепатоциты [6].

Гипоксия и ишемия усиливают митохондриальную дисфункцию и апоптоз, образуя «порочный круг». При этом гипердинамическое состояние, снижение артериального давления и вазодилатация увеличивают нагрузку на сердечно-сосудистую систему и приводят к мультиорганным осложнениям [6, 115, 121].

Далее — один из ярких компонентов — энцефалопатия и нарушение нейрометаболизма, возникающие вследствие накопления аммиака, меркаптанов, триптофана и других токсинов, которые печень не смогла утилизировать. Увеличение аммиака вызывает астроцитарный отёк, нарушение осмолярности мозга и риск церебрального отёка [3, 10, 15, 22]. Обзор J Gastroenterol Hepatol (Oketani M. et al., 2021) подчёркивает, что смертельный риск при ОПечН часто связан с развитием церебрального отёка и внутричерепной гипертензии [85].

Нейрогенные механизмы включают повреждение митохондрий в астроцитах, нарушение передачи сигналов и увеличение оксидативного стресса в мозге, что усиливает центральные неврологические осложнения [22].

Не менее важным является аспект гемокоагуляционных и детоксикационных нарушений печени. Потеря синтетической функции печени приводит к снижению уровней факторов свертывания, гипо-альбуминемии и нарушению фибринолиза. Однако интересным является концепция «пере-сбалансированной» гемостазиологии: несмотря на снижение факторов, одновременное подавление фибринолиза и активация тромбо-микропластинов могут вести к тромботическим событиям [10].

Кроме того, печень теряет способность к выведению токсинов и метаболитов (например, аммиака, бромсульфалеина, меди), что создаёт фундамент для системных осложнений.

В патогенезе ОПечН всё чаще обращают внимание на генетические и молекулярные механизмы индивидуальной предрасположенности. Полиморфизмы генов ферментов детоксикации (CYP450, GST) и антиоксидантных систем (SOD, GPX) могут определять, как организм реагирует на токсическое или инфекционное повреждение печени. Например, обзор *Future Directions in Acute Liver Failure (2023)* подчёркивает значимость биобанков и геномных анализов в изучении индивидуальной чувствительности к ОПечН [1, 42, 58, 73, 115].

Кроме того, исследования показывают, что митохондриальные белки (например, Drp1) и сигнальные пути апоптоза (Bax/Bcl-2) участвуют в гибели гепатоцитов, а угнетение регенерации связано с нарушением факторов роста (HGF, VEGF) и подавлением сигнальных путей ведения роста печени [10].

Наконец, важным компонентом является повреждение других органов и развитие полиорганной недостаточности, что превращает локальное печёночное повреждение в системную проблему. Как указывают Fuhrmann V., Ager B., Zubkova A., et al. (2020), массивная печёночная недостаточность ведёт к вазодилатации, нарушению микроциркуляций не только в печени, но и в почках (развитие острой почечной недостаточности), лёгких (острый респираторный дистресс-синдром), сердце (гипердинамическое состояние) и головном мозге. Такая мультисистемная вовлечённость делает исход во многом зависимым от поддержки целых систем организма, не только печени [57].

В целом, патогенез острой печёночной недостаточности можно видеть как последовательность: острое повреждение гепатоцитов → митохондриальная дисфункция и оксидативный стресс → воспалительный/иммунный шторм → нарушение микроциркуляции и гипоксия → нейрометаболические и коагуляционные нарушения → системная

мультиорганный недостаток. Каждый из этих шагов включает активные исследовательские направления, новые биомаркеры и потенциальные терапевтические мишени (например, антиоксиданты, модуляторы митохондрий, иммунотерапия, поддержка микроциркуляции) [10, 27, 95, 115, 121].

Таким образом, современные представления акцентируют не только на первичном поражении печени, но и на том, что сама печень — лишь начальная площадка, откуда запускается целый каскад вторичных повреждений, который при неблагоприятных условиях приводит к гибели пациента. Понимание этих механизмов важно именно с точки зрения будущего — разработки новых терапевтических подходов, таргетированных именно на ключевые звенья патогенеза, а не только симптоматическую поддержку.

### **1.5. Классификация, клиническая картина и вопросы ранней диагностики ОПечН.**

Острая печеночная недостаточность классифицируется по четырем стадиям: компенсированная (начальная), декомпенсированная (выраженная), дистрофическая (терминальная) и печеночная кома. Эти стадии описывают нарастание симптомов, начиная от их отсутствия или незначительности при компенсированной форме до полного угнетения сознания в терминальной стадии [6, 10, 84, 95, 121].

Стадии острой печеночной недостаточности:

I стадия: Компенсированная (начальная) [6, 95, 121]

Симптомы малозаметны или отсутствуют.

Могут наблюдаться незначительное снижение аппетита и веса.

Патологические процессы в печени уже развиваются, например, в портальной вене [121].

II стадия: Декомпенсированная (выраженная) [6, 95, 121]

Компенсаторные возможности печени истощаются.

Появляются неврологические симптомы: раздражительность, эмоциональная нестабильность, нарушения ориентации.

Может отмечаться тремор (дрожание конечностей).

III стадия: Дистрофическая (терминальная) [6, 95, 121]

Функция клеток печени значительно нарушена, что приводит к кровотечениям из-за дефицита факторов свертываемости крови.

Появляются отеки и асцит (накопление жидкости в брюшной полости) из-за белкового дефицита.

Наблюдаются нарушения сознания.

IV стадия: Печеночная кома

Заключительная стадия, характеризующаяся полной утратой сознания из-за дисфункции печени и накопления токсинов.

В течении острой печёночной недостаточности можно выделить 2 ведущих синдрома:

1. Синдром массивного некроза печени, проявляющийся: нарастающей общей слабостью, анорексией, постоянной тошнотой, переходящей в рвоту, повышением температуры, нарастанием желтухи, появлением специфического сладковато-приторного "печеночного" запаха, уменьшением размеров печени (симптом пустого подреберья); – появлением в общем анализе крови лейкоцитоза (так называемая лейкомоидная реакция), ускоренной СОЭ, снижением протромбинового индекса до 50% и ниже; – нарастанием в биохимическом анализе крови общего билирубина за счет непрямой фракции на фоне снижения уровня АЛТ (синдром билирубино-ферментной диссоциации) [6].

2. Синдром энцефалопатии (печеночная прекома и кома) Выделяют 4 стадии энцефалопатии [6].

- Прекома 1 (фаза предвестников): – возникает адинамия, заторможенность, замедление речи, нарушение ориентации, забывчивость; – отмечается инверсия сна (сонливость днем, бессонница ночью), кошмары; – появляются вегетативные расстройства (обмороки, головокружение, "мушки" перед глазами, шум в ушах, икота, зевота, повышенная потливость); – нарастают неврологические нарушения - нарушается координация движений,

появляется непостоянный и не резко выраженный "хлопающий" тремор рук, языка, больные сохраняют ориентацию во времени и пространстве, дают адекватные, но замедленные ответы на вопросы, выполняют простые команды [6, 95, 121]

- Прекома 2: – больные сонливы, большую часть времени дремлют или спят, при пробуждении дезориентированы, характерны стереотипность речи и поведения, реакция на словесное раздражение (обращение) замедлена, но целенаправленна, на болевые раздражения – сохранена; – усиливаются неврологические нарушения: "хлопающий" тремор рук, снижение сухожильных рефлексов, снижение зрачковых реакций, дискоординация движений, учащение дыхания, нередко возникают расстройства тазовых органов – непроизвольное мочеиспускание и дефекация. В этот период может возникнуть острое психомоторное возбуждение, напоминающее алкогольный делирий - печеночный делирий. В этом состоянии больные теряют ориентацию, вскакивают с постели, кричат, становятся агрессивными, появляется судорожный синдром [6, 10, 84, 95, 121].

- Кома 1 (неглубокая кома): - сознание угнетено, реакция на окрик отсутствует, на сильные раздражители (боль, холод, тепло) – сохранена, - неврологические изменения: широкие зрачки с почти полным отсутствием реакции на свет, симптом плавающих глазных яблок, патологические рефлексы Бабинского, Гордона, клонус мышц стоп; лицо становится маскообразным, конечности ригидные, возникают приступы клонических судорог, - парез гладкой мускулатуры приводит к атонии кишечника с прогрессирующим вздутием кишечника, прекращением мочеотделения при полном мочевом пузыре – "ischuria paradoxa" [6, 10, 84, 95, 121].

- Кома 2 (глубокая кома) 4 Для неё характерна полная утрата реакции на любые раздражения[6, 10, 84, 95, 121].

В качестве дополнительных синдромов выделяют: 1. Отёк-набухание головного мозга. 2. Геморрагический синдром. 3. Острая почечная недостаточность. 4. Присоединение гнойно-септической инфекции. 5. Болевой

синдром [6, 10, 84, 95, 121].

Таким образом, в *диагностике ОПечН* имеют значение следующие лабораторные и инструментальные исследования:

А) Лабораторные. АсТ<sub>т</sub>, АсТ<sub>с</sub> – печеночные ферменты, которые попадают в кровь при повреждении ткани печени. Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – фермент, присутствующий во всех тканях организма и участвующий в энергетическом обмене [35, 37]. При повреждении печени его активность значительно увеличивается. Билирубин общий – при острой печеночной недостаточности может быть повышен преимущественно за счет прямой (связанной) фракции. Протромбиновый индекс. Протромбин – предшественник тромбина, который участвует в образовании сгустков крови. Анализ применяют, чтобы определить скорость свертываемости крови. При острой печеночной недостаточности протромбиновый индекс может быть повышен, что указывает на увеличение времени свертывания крови [15, 29, 35]. Фибриноген – фактор свертываемости крови, который синтезируется клетками печени. При повреждении печеночной ткани его уровень может быть снижен. Общий белок сыворотки. При острой печеночной недостаточности уровень общего белка бывает снижен за счет уменьшения количества альбуминов – основных белков плазмы крови, которые синтезируются в печени. Снижение их количества говорит о повреждении клеток печени и нарушении ее синтетической функции [35, 37].

В) Инструментальные. УЗИ органов брюшной полости. Его используют для того, чтобы выявить увеличение печени, наличие жидкости в брюшной полости (асцит), внутренние кровотечения. Биопсия печени. Взятие образца ткани печени с помощью тонкой полой иглы, которая вводится через кожу брюшной стенки после анестезии. При микроскопии взятого образца определяется нарушение структуры печени, повреждение клеток [15, 37].

В настоящее время разработаны и применяются в клинической практике достаточно много прогностических шкал и критериев развития печеночной недостаточности, однако большинство из них относятся к хронической

печеночной недостаточности – шкалы Чайлд–Трукотт–Пью, MELD, CLIF-C-ACLF (Acute-on-Chronic Liver Failure), CLIF-SOFA [7, 11, 16, 19, 25, 36]. Также существуют их модифицированные версии, дополненные каким-либо параметром, например, уровнем натрия в модифицированной модели MELD-Na или уровнем креатинина в модифицированной шкале Чайлд–Трукотт–Пью. Более того, тяжесть состояния пациентов с терминальными стадиями заболеваний печени может оценивать с помощью критериев APACHE II (Acute physiology and chronic health evaluation) и SOFA (Sequential organ failure assessment) [75, 99]. Zhang и соавт (2021) [116] также предложили удобные математические прогностические модели для оценки выживаемости больных с ЦП и после трансплантации печени.

Однако, все вышеупомянутые шкалы, характеризуют состояние печени и прогноз выживаемости у пациентов с циррозом печени и не эффективны для диагностики именно острой печеночной недостаточности, возникшей вследствие развития критических состояний [7, 11, 16, 19, 25, 36, 116].

Безусловно попытки разработать прогностические критерии ОПечН предпринимаются постоянно [7, 11, 16, 19, 25, 36]. Так российскими исследователями Еремеева Л.Ф. и соавт. (2013) предложено прогнозирование развития декомпенсации печени по изучению уровня бактериального полисахарида, эндотоксина грамотрицательных бактерий в крови человека [7]. При повышении его уровня свыше 64 пкг/мл вероятность развития ОПечН превышает 80%, свыше 256 пкг/мл – 100%. Однако данный прогностический показатель применим, опять-таки, только для пациентов с сепсисом на фоне имеющегося хронического поражения печени. Косик А.А. и соавт. (2022) предложили автоматически определять риск развития ОПечН после резекции печени на основании наличия у пациента гепатита, первичного рака или метастазов в анамнезе, возраста пациента и с учетом показателей установленных до операции: АЧТВ, ПТИ, МНО, блеббинга лимфоцитов, наличия свободных микрочастиц лимфоцитарного происхождения, линейной скорости кровотока в воротной вены и печеночной артерии, индекса

периферического сопротивления печеночной артерии [11]. Недостатком данного способа прогнозирования является его громоздкость и ограниченность в применении – только для больных подвергающихся резекции. Группа авторов из Китая, Fu S., Wu D., Jiang W. [71], в 2020 году для определения тяжести токсического поражения печени и прогноза ОПечН предложили одновременно определять у больных такие биохимические маркеры как уровень глутаматдегидрогеназы, кератина-18, сорбитолдегидрогеназы, глутатион-S-трансферазы, цитохрома P450, остеопонтина, высокоподвижного белка группы box-1, кадгерина-5 и параллельно проводить генетическое тестирование пациентов. Однако методика такого комплексного обследования касалась только больных с лекарственным поражением печени, не была обоснована достаточным количеством клинических наблюдений, требовала дорогих и дефицитных реактивов, поэтому не получила широкого клинического применения [58].

В настоящее время разработаны и применяются в клинической практике достаточно много прогностических шкал и критериев развития печеночной недостаточности, однако большинство из них относятся к хронической печеночной недостаточности – шкалы Чайлд–Трукотт–Пью, MELD, CLIF-C-ACLF (Acute-on-Chronic Liver Failure), CLIF-SOFA [7, 11, 16, 19, 25, 36, 121]. Также существуют их модифицированные версии, дополненные каким-либо параметром, например, уровнем натрия в модифицированной модели MELD-Na или уровнем креатинина в модифицированной шкале Чайлд–Трукотт–Пью. Более того, тяжесть состояния пациентов с терминальными стадиями заболеваний печени может оценивать с помощью критериев APACHE II (Acute physiology and chronic health evaluation) и SOFA (Sequential organ failure assessment) [75, 99]. Grant L. . (2012), Zhang и соавт (2021) [61, 116] также предложили удобные математические прогностические модели для оценки выживаемости больных с ЦП и после трансплантации печени.

Однако, все вышеупомянутые шкалы, характеризуют состояние печени и прогноз выживаемости у пациентов с циррозом печени и не эффективны для

диагностики именно острой печеночной недостаточности, возникшей вследствие развития критических состояний [61, 115, 116, 121].

Черешневым В.А. и соавт. изучена возможность использования атомно-силовой микроскопии (АСМ) эритроцита в диагностике и прогнозировании развития ОПечН у пациентов с механической желтухой. Метод основан на феномене изменения морфологии мембран эритроцитов на фоне воздействия на них различных факторов. Согласно приведенным данным, АСМ красных клеток крови в совокупности с биохимическими показателями плазмы позволяет с высокой точностью установить вероятность формирования ОПечН на ранних стадиях. В свою очередь это способствует своевременному началу лечения, направленному на предотвращение развития данного состояния без применения инвазивных методов [37, 38, 39]. Также для исследования функции печени можно определять концентрацию токсических метаболитов в периферической крови с помощью хроматографии и хромато-масс-спектрометрии (газожидкостной хроматографии) [38, 39]. По мнению исследователей, метод позволяет с высокой степенью чувствительности определить функциональное состояние печени, что, несомненно, важно при выборе тактики лечения ОПечН. В Великобритании стандартом оценки и прогноза ОПечН при определении показаний к экстренной трансплантации печени являются критерии Королевского колледжа (ККК); помимо этого, при оценке ОПН учитывают критерии Клише–Вилледжуифа [18]. Они включают энцефалопатию и уровень V фактора, который в свою очередь зависит от возраста больных. У пациентов младше 30 лет учитывают показатель, который имеет значение II стадии. По мнению авторов, эта модель оценки ОПН более эффективна в сравнении с КСС и имеет высокую чувствительность и специфичность (85 и 87%) [5]. Еще одним критерием, позволяющим прогнозировать развитие ПН, является показатель «50–50». В частности, этот критерий применяют в раннем периоде после резекции печени. Его предложил коллектив авторов из Франции в 2005 г. Исследователи считают, что если к 5-му дню после операции протромбиновый индекс по Квику 50 мкмоль/л, то

вероятность развития ОПН стремится к 100%, вероятность летального исхода >50% [39].

Однако, при таком представлении об ОПечН, практикующий врач экстренной медицины реагирует на ее развитие достаточно поздно, когда уже требуется медикаментозное протезирование органа или его хирургическая замена. Тем самым значительно сужается возможность провести адекватную профилактику данного состояния.

Поэтому назрела необходимость кардинального пересмотра самого понятия ОПечН, более углубленного развития изучения закономерностей ее развития, поиска ранних маркеров поражения печени, которые позволят провести профилактику ОПечН или ее лечение на субклинической стадии [18, 92, 109].

### **1.6. Интенсивная терапия. ОПечН.**

Залог успешного лечения острой печеночной недостаточности лежит в своевременном распознавании, адекватной терапии и рассмотрении возможности трансплантации печени. В диете ограничивают употребление животного белка. Животный белок следует заменить на растительный белок, обеспечивающий достаточный калораж для предотвращения отрицательного азотистого баланса [16, 31, 69].

Количество белка ограничивают в соответствии со степенью тяжести печеночной энцефалопатии: 1. Прекома 1 – количество белок ограничивается до 40 г/сутки. 2. Прекома 2 – количество белка ограничивается до 30 г/сутки. 3. Кома – количество белка ограничивается до 20 г/сутки. При улучшении состояния доза белка может быть увеличена, однако при наличии в анамнезе печеночной энцефалопатии количество белка не должно превышать 70 г/сутки. Минимальное содержание белка для поддержания положительного азотистого баланса – 40 г/сутки [16, 97].

Медикаментозная терапия: С целью уменьшения поступления аммиака из толстой кишки рекомендуется использовать: 1. невсасывающиеся антибиотики (уровень доказательности В): неомицин внутрь 0,51 г каждые 6

или 12 ч 7 дней или ванкомицин внутрь 1 г 2 раза в сутки 7 дней или метронидазол внутрь 250 мг 3 раза в сутки 7 дней. 2. невсасывающиеся синтетические дисахариды (уровень доказательности А): лактулоза – 30 – 90 мл/сут внутрь или в виде клизм – доза должна быть достаточной для достижения частоты стула 2-3 раза в день [97]

Необходим мониторинг гемодинамики, показано внутривенное введение глюкозо-солевых растворов в соотношении 1:1 и коллоиды в соотношении к глюкозо-солевым растворам 1:1. Чрезмерные количества альбумина опасны прогрессированием печеночной энцефалопатии. Важным моментом в лечении больных с острой печеночной недостаточностью является контроль гликемии, т.к. высок риск развития гипогликемии, и коррекция внутривенным капельным введением глюкозы [97].

При наличии геморрагического синдрома пациентам показано переливание свежзамороженной плазмы. При желудочно-кишечном кровотечении показана терапия ингибиторами протонной помпы. При развитии дыхательной недостаточности показана ИВЛ. При развитии гепаторенального синдрома и острой почечной недостаточности показана соответствующая консервативная терапия или проведение гемофильтрации/гемодиализа. Самым оптимальным экстракорпоральным методом лечения пациентов с острой печеночной недостаточностью является альбуминовый диализ на аппарате MARS [29, 60, 73].

При развитии инфекционных осложнений показана антибактериальная терапия. На современном уровне знаний патофизиологии печеночной энцефалопатии принято считать, что снижение уровня аммиака — наиболее значимый критерий эффективного лечения. Исходя из этого, одним из эффективных методов лечения пациентов с острой печеночной недостаточностью является применение гипоаммониемического препарата L-орнитина аспартат [31]. L-орнитин активирует в гепатоцитах орнитинкарбамоилтрансферазу и кабамоилфосфатсинтазу – ведущие ферменты цикла синтеза мочевины, что стимулирует обезвреживание аммиака

в орнитиновом цикле в печени. L-аспартат активирует глутаминсинтетазную реакцию в мышцах, синтез глутамина в мышцах является основной реакцией обезвреживания аммиака [31].

Трансплантация печени - единственный эффективный метод лечения острой печеночной недостаточности. Решение о трансплантации принимается коллегиально с учетом показаний, противопоказаний и доступности донорских органов, что является на настоящий момент времени серьезной проблемой во всем мире. Для принятия решения о трансплантации печени могут быть использованы критерии госпиталя Лондонского королевского колледжа: 1. При передозировке парацетамола: рН < 7.3 или протромбиновое время > 100 с и уровень сывороточного креатинина > 300 мкмоль/л при условии наличия энцефалопатии 3-4 стадии (кома 1-2). 2. При других причинах развития острой печеночной недостаточности: протромбиновое время > 100 с или три из следующих критериев: возраст < 10 лет или > 40 лет; длительность желтухи перед появлением энцефалопатии > 7 дней; протромбиновое время > 50 с; уровень сывороточного билирубина > 300 мкмоль/л [37, 38, 39, 63].

Таким образом современные представления об острой печеночной недостаточности характеризуют ее как манифестацию тяжелого, декомпенсированного поражения печени различной этиологии или как компонент полиорганной недостаточности при критических состояниях.

Однако, при таком представлении об ОПечН, практикующий врач экстренной медицины реагирует на ее развитие достаточно поздно, когда уже требуется медикаментозное протезирование органа или его хирургическая замена. Тем самым значительно сужается возможность провести адекватную профилактику данного состояния.

Поэтому назрела необходимость кардинального пересмотра самого понятия ОПечН, более углубленного развития изучения закономерностей ее развития, поиска ранних маркеров поражения печени, которые позволят провести профилактику ОПечН или ее лечение на субклинической стадии.

### **1.7. Теоретическое обоснование новой концепции острой печеночной недостаточности.**

Среди пациентов поступающих в систему экстренной медицины нашей страны, ОПечН наиболее часто развивается у больных с острыми отравлениями гепатотоксичными ядами (алкоголь, уксусная кислота, парацетамол, антигельминтные и противотуберкулезные средства, ядовитые грибы) и различными хирургическими эндотоксикозами (перитонит, механическая желтуха, панкреонекрозы, тяжелые ожоги), а также после критического снижения печеночного кровотока (кровопотеря, травматический шок) [15, 28].

Однако, несмотря на различную этиологию развития ОПечН, считаем, что имеются общие механизмы ее развития и в первую очередь токсическое поражение печени с нарушением дезинтоксикационной функции, так как печень является барьером на пути фактически всех экзо- и эндотоксинов, попадающих в организм человека. Попадая в организм различными путями, гепатотоксические агенты нарушают структуру и функцию клеточных мембран гепатоцитов, усиливают процессы перекисного окисления липидов, нарушают митохондриальное дыхание гепатоцитов, изменяют процессы регенерации и функции гепатоцитов [15, 28].

Одним из маркеров печеночной недостаточности в ее терминальной стадии, с развитием ПЭ считается определение уровня свободного аммиака (аммония) в крови. При этом по данным разных авторов содержание аммиака в крови повышается только при развитии массивных некрозов с выключением более 80% ее паренхимы. У больных циррозами аммиак поступает в кровь преимущественно по портокавальным анастомозам. Аммиак, не включившийся в орнитиновый цикл, в присутствии глутаминсинтетазы и АТФ превращается в глутаминовую кислоту, затем в глутамин, который сам является токсичным агрессивным соединением. Существует прямая корреляция между повышением уровня глутамина и тяжестью печеночной энцефалопатии [1, 16].

Однако в научно-клиническом отделе токсикологии РНЦЭМП в 2015-2017 гг. в ходе выполнения гранта АДСС-15.4.5 «Разработка новых методов диагностики, интенсивной терапии и профилактики осложнений острой алкогольной интоксикации» были получены данные о высоком уровне свободного аммиака у больных с алкогольными гепатитами. Особенностью этих пациентов было также наличие незначительного повышения уровня ферментов АлТ, АсТ и билирубина, т.е. отсутствие явных признаков печеночной недостаточности, при этом уровень аммония превышал нормальные показатели в 3-5 раз и коррелировал с тяжестью алкогольной энцефалопатии. Полученные сведения позволили предположить, что гипераммониемия является показателем не терминальной стадии ОПечН, а наоборот ранним ее маркером, еще до клинической манифестации [1, 16].

Таки образом, считаем, что одним из ранних механизмов развития ОПечН является угнетение детоксикационной функции печени в виде нарушения функционирования системы цитохром Р450, а также орнитинового цикла обезвреживания свободного аммиака организма.

Так как гипераммониемия приводит увеличению сродства кислорода к гемоглобину и ухудшению его отдачи в ткани, то развивается тканевая гипоксия с соответствующим ростом уровня лактата крови. Таким образом определение соотношения корреляции аммоний/лактат может также служить ранним маркером ОПечН [15, 28].

Учитывая что из общего количества больных с отравлениями гепатотоксичными ядами, эндотоксикозами токсические поражения печени развиваются у 27-55% пострадавших, то перспективными диагностическими методами диагностики развития ОПечН являются изучение полиморфизма генов отвечающих за процессы биотрансформации, таких как СYP2E1 и уровня глутатион-S-трансферазы (GSTs) – ключевого компонента второго этапа биотрансформации ксенобиотиков. По результатам таких исследований можно определить группу лиц у которых имеется генетическая

предрасположенность к токсическому поражению печени и соответственно ОПечН [50].

Таким образом, при детальном изучении соотношения патологических изменений традиционных показателей поражения печени: АлТ, АсТ, ЛДГ, ЩФ, билирубина, общего белка, ПТИ, фибриногена с динамикой роста аммония, лактата и клинической симптоматики можно будет выявлять ОПечН на ранней стадии.

Вышеупомянутые нерешенные вопросы в диагностике и интенсивной терапии острой печеночной недостаточности послужили основой для проведения клинико-экспериментальных исследований в рамках фундаментального гранта ФЗ – 2020100418 «Изучение закономерностей развития и патогенетическое обоснование применения клеточных технологий при печеночной недостаточности».

## ГЛАВА II. ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ В ПАТОГЕНЕЗЕ РАЗВИТИЯ ОСТРОЙ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ И ПУТИ ЕЁ КОРРЕКЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

**Введение.** Митохондриальная дисфункция является одним из ключевых звеньев патогенеза тяжёлых гепатитов и острой печёночной недостаточности, определяя исход метаболических и клеточных процессов, от которых зависит выживаемость гепатоцитов. Нарушение работы митохондрий ведёт к снижению окислительного фосфорилирования, дефициту АТФ, активации процессов перекисного окисления липидов и апоптозу, что в совокупности формирует энергодефицитное состояние печени и способствует развитию некроза паренхимы. В экспериментальных и клинических исследованиях последних лет показано, что митохондриальные изменения при токсических поражениях печени сопровождаются расстройством дыхательной цепи, накоплением лактата, дисбалансом  $\text{NADH/NAD}^+$  и вторичным оксидативным стрессом, который распространяется на другие органы, усугубляя полиорганную недостаточность. В связи с этим внимание исследователей всё чаще привлекают метаболические корректоры, способные поддерживать клеточное дыхание и энергетический обмен.

Особое место среди них занимают препараты сукцинатного ряда — соли янтарной кислоты, являющиеся естественными промежуточными метаболитами цикла Кребса. Их применение направлено на восстановление активности дыхательной цепи митохондрий, стабилизацию мембран, уменьшение продукции свободных радикалов и повышение устойчивости клеток к гипоксии. Ряд экспериментальных работ подтвердил, что сукцинаты способны поддерживать уровень АТФ, улучшать показатели микрогемодинамики и снижать степень цитолиза при токсических гепатитах и острой печёночной недостаточности. Таким образом, изучение митохондриальной дисфункции и возможностей её фармакологической коррекции сукцинатами представляет собой важное направление современной клинической фармакологии и экспериментальной гепатологии, имеющее не

только теоретическое, но и выраженное практическое значение в разработке новых подходов к терапии критических состояний печени.

Интересен тот факт, что несмотря на обилие публикаций по применению сукцинатсодержащих препаратов в интенсивной терапии поражений печени, фундаментальные работы, доказывающие факт их эффективности на субклеточном уровне, отсутствуют.

### **2.1. Материал и методы исследования.**

Материал исследования. Экспериментальная часть исследований была посвящена изучению энергетического метаболизма клеток печени на фоне четыреххлорметановой (CCl<sub>4</sub>) модели тяжелого токсического гепатита и влиянию на него сукцинатсодержащего препарата. Эксперимент проводился на 94 беспородных белых крысах самцах весом 218±11,6 грамма. Животные были распределены на 6 групп. Характер распределения и количество участников в каждой группе приведены в таблице 2.1.

Таблица 2.1. Распределение исследуемых животных (n=94)

№	Группы животных	Количество животных
1	1 контрольная группа (для клинических, биохимических исследований)	8 крыс
2	2 контрольная группа (для изучения митохондриального дыхания)	22 крысы
3	1 основная группа (CCl <sub>4</sub> ) для клинических, биохимических исследований	10 крыс
4	2 основная группа (CCl <sub>4</sub> +сукцинат) для клинических, биохимических исследований	10 крыс
5	3 основная группа (CCl <sub>4</sub> ) для (для изучения митохондриального дыхания)	22 крысы
6	4 основная группа (CCl <sub>4</sub> +сукцинат) для (для изучения митохондриального дыхания)	22 крысы
	Итого	94 животных

На данное исследование было получено разрешение Этического комитета РУз № 3/5-1521 от 20.05.2021 года

Методы исследования. Экспериментальные исследования проводили в двух лабораториях – экспериментальной медицины, генетики и патоморфологии РНЦЭМП и лаборатории экспериментальной биофизики при Агентстве инновационного развития РУз (исследователи Баев А.Ю., Чарышникова О.С.).

При проведении экспериментальных исследований по изучению клеточного метаболизма на модели токсического поражения печени для проведения биохимических исследований в динамике развития заболевания у 8 крыс проводили забор крови путем пункции хвостовой вены по методике Тимкина П.Д. и соавт. (2019) (перед взятием крови хвост опускался в горячую 45-50°C воду и натирался 70% этиловым спиртом, а затем вену сдавливали у корня хвоста. Для пункции применялась катетер-бабочка, с очень медленным оттягиванием шприца), на 3-е и 5-е сутки. Биохимические параметры крови – глюкозу крови, общий билирубин, аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), свободный аммиак – исследовали с помощью наборов реактивов по общепринятым методикам. Биохимические исследования проводили на анализаторе «BioSystems» (Япония).

Митохондрии были выделены из печени методом дифференциального центрифугирования. Измерение потребления кислорода, митохондриального мембранного потенциала, НАД(Ф)Н и ФАД<sup>+</sup> аутофлуоресценции и индукции ПТП изолированных митохондрий от каждого животного проводились параллельно.

Потребление кислорода измеряли с помощью системы респирометрии Mitocell S200 (Strathkelvin Instruments, Северный Ланаркшир, Шотландия). Скорость дыхания оценивали, по различным состояниям дыхания:  $V_2$  – «дыхание покоя», митохондриальное дыхание в присутствии глутамата и малата, но без АДФ;  $V_3$  – скорость дыхания митохондрий во время

окислительного фосфорилирования (после добавления 200 мкмоль АДФ);  $V_4$  – скорость дыхания после того, как весь добавленный АДФ был преобразован в АТФ;  $V_{\text{СССР}}$  – максимальное дыхание в присутствии 3 мкМ СССР (карбонилцианид 3-хлорфенилгидразон, Sigma-Aldrich). Функциональное состояние митохондрий оценивали по дыхательному коэффициенту (ДК) – отношению скоростей дыхания  $V_3/V_4$ ; и АДФ/О – отношению 200 мкмоль добавленного АДФ к потребленному  $O_2$  (мкг атомов) во время состояния  $V_3$ , как описано в [24]. Все эксперименты проводились с течением времени, при 25 °С и постоянном перемешивании, митохондрии добавлялись в камеру в концентрации 1 мг/мл по белку, в следующих инкубационных буферах (ИБ):

- 120 мМ КСl, 5 мМ *глутамата*, 1 мМ *малата*, 10 мМ Трис-НСl, 1 мМ  $KH_2PO_4$ , 1 мМ  $MgCl_2$ , 1 мМ EGTA;
- 120 мМ КСl, 5 мМ *сукцината*, 10 мМ Трис-НСl, 1 мМ  $KH_2PO_4$ , 1 мМ  $MgCl_2$ , 1 мМ EGTA;
- 120 мМ КСl, 5 мМ *сукцината*, 10 мМ Трис-НСl, 1 мМ  $KH_2PO_4$ , 1 мМ  $MgCl_2$ , 1 мМ EGTA, 1 мкМ *ротенона*
- 120 мМ КСl, 5 мМ *глутамата*, 1 мМ *малата*, 5 мМ *сукцината*, 10 мМ Трис-НСl, 1 мМ  $KH_2PO_4$ , 1 мМ  $MgCl_2$ , 1 мМ EGTA;
- КСl, 10 мМ Трис-НСl, 1 мМ  $KH_2PO_4$ , 1 мМ  $MgCl_2$ , 1 мМ EGTA  
рН 7,1 (рН отрегулирован с помощью КОН). рН 7,1 (рН отрегулирован с помощью КОН). Для экспериментов СРС 1 мМ EGTA был исключен из всех типов инкубационных буферов.

Скорость дыхания была представлена в %. Для понимания функциональных изменений митохондриальной биоэнергетики в разных ИБ и при разных условиях мы нормализовали данные - скорость дыхания в  $V_2$  была принята за 100% для каждого экспериментального набора и изменений в других функциональных состояниях ( $V_3$ ,  $V_4$  и  $V_{\text{СССР}}$ ) были рассчитаны относительно  $V_2$ . Однако, чтобы понять различия между  $V_2$  в разных ИБ и разных экспериментальных условиях,  $V_2$  в ИБ глутамата малата в контрольных образцах был принят за 100%.

Для измерения митохондриального мембранного потенциала  $\Delta\Psi_m$  изолированные митохондрии нагружали 10 мкМ родамина 123 (Invitrogen) на льду в темноте в течение 30 минут. Измерения проводили на флуоресцентном спектрофотометре Cary Eclipse (Agilent Technologies, США). Для регистрации сигнала  $\Delta\Psi_m$  суспензию митохондрий, нагруженных родамином 123, возбуждали при 505 нм, а излучение регистрировали при 534 нм. Все эксперименты с активными митохондриями проводили при 25 °С, в кюветах объемом 3 мл, при постоянном перемешивании в 4 типах инкубационных сред. Митохондрии добавляли в кювету в концентрации 0,5 мг/мл в пересчете на белок.

Уровень НАД(Ф)Н и ФАД<sup>+</sup> изолированных митохондрий оценивали с помощью флуоресцентного спектрофотометра Cary Eclipse (Agilent Technologies, США). Уровень НАД(Ф)Н измеряли при возбуждении 360 нм / эмиссии 455 нм, ФАД<sup>+</sup> при возбуждении 454 нм / эмиссии 533 нм при 25°С с постоянным перемешиванием. Параметры считывали с интервалом в 10 секунд. Для определения митохондриального пула этих метаболитов мы использовали СССР для активации максимального потребления НАДН и ФАДН<sub>2</sub> (ФАД<sup>2+</sup> ↑) и, таким образом, снижения его уровней, а затем антимицин А для ингибирования его потребления и максимизации уровня НАДН и ФАДН<sub>2</sub> (ФАД<sup>2+</sup> ↓).

Емкость удержания кальция (CRC) измеряли путем последовательного добавления 10 мкМ CaCl<sub>2</sub> каждые 30 сек до тех пор, пока не индуцировалось открытие РТР. Оценка CRC проводилась с использованием метода высвобождения митохондриального кальция с использованием непроницаемого для клеток кальций-чувствительного флуоресцентного красителя - Calcium Green 5 N (0,5 мкМ; возбуждение 506 нм и испускание 532 нм), эксперименты проводились на флуоресцентном спектрофотометре Cary Eclipse (Agilent Technologies, США). CRC в глутамат-малате IV контрольных образцов принимали за 100%, а изменения CRC в различных экспериментальных условиях рассчитывали относительно контроля (100%).

Оценку уровня перекисного окисления липидов проводили путем измерения малонового диальдегида. Образцы измеряли в двух различных зонах: базальном и вызванном реакцией Фентона. Все зонды инкубировали в течение 30 минут при 37 °С с инкубационным буфером, содержащим 125 мМ КСl; 25 мМ Трис ОН; 20 мкМ FeSO<sub>4</sub>; 20 мкМ аскорбиновой кислоты, рН = 7,4. Реакцию останавливали 70 % трихлоруксусной кислотой (ТХУК). Для измерения базального МДА ТХУК добавляли перед инкубацией. Затем зонды центрифугировали в течение 15 минут при 1500 g. Полученный супернатант смешивали с 50 мМ ТВА в соотношении 2:1 и инкубировали в течение 30 минут при 95 °С. После инкубации зонды измеряли с помощью спектрофотометра Cary 60 UV-Vis (Agilent Technologies, США) при 532 нм. В качестве нулевого стандарта использовали зонд, содержащий инкубационный буфер, ТСАА и ТВА. Митохондрии добавляли к зондам в концентрации 0,5 мг/мл в пересчете на белок.

Для гистопатологического исследования печени печень фиксировали в 10% нейтральном буферном растворе формалина при комнатной температуре в течение 24 ч. Ткань печени обезвоживали, инфильтровали воском и нарезали на ломтики толщиной от 0,35 мкм до 5 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином и исследовали под полуавтоматическим световым микроскопом Olympus BX53. Морфометрическую оценку срезов проводили в 5 последовательных полях с использованием морфометрической сетки, установленной в окуляре микроскопа на 5-<sup>е</sup> и 9-<sup>е</sup> сутки. Подсчитывали количество гепатоцитов с дистрофическими и некротическими изменениями, а также количество двуядерных гепатоцитов.

Гепатотоксическую модель ОПечН индуцировали с помощью однократного внутрибрюшинного введения гепатотропного токсина ССl<sub>4</sub> в дозе 200 мкг (0,2 мл)/100 г массы тела в объемном соотношении токсин:стерильное оливковое масло – 1:1. т.е. 50% раствор ССl<sub>4</sub> в масле (рисунок 2.1.).



Рис.2.1. Пример введения яда крысам

Сукцинат (Ремаксол ) животным вводили в дозе 0,4 мл/100 г массы тела внутривенно 2 раза в сутки 3 дня (рисунок 4.2).



Рис.2.2. Пример введения препарата крысам

Индукцированное четыреххлористым углеродом повреждение печени является классической моделью, широко используемой для скрининга гепатопротекторов. Острая гепатотоксичность  $CCl_4$  заключается в биотрансформации до трихлорметил свободных радикалов  $CCl_3$  или трихлорпероксил радикалов ( $CCl_3O_2$ ), продуцируемых системой эндоплазматического ретикула цитохром P450 оксигеназа и вызывающих окислительный стресс и повреждение мембраны клеток. Эти свободные радикалы индуцируют перекисное окисление липидов, приводящее к повреждению клеток печени и усилению воспаления. Преимущество этой модели заключается в том, что четыреххлористый углерод вызывает

фульминантный гепатит (некроз и жировое перерождение) за несколько часов, и этот процесс подобен наблюдаемому при острых гепатитах.

Таким образом нами имитировалась стандартная ситуация отравления гепатотоксичным ядом и лечебной гепатопротекции сукцинатом.

## 2.2. Клиническая и лабораторная характеристика животных.

Оценку общего состояния проводили на основании ежедневного контроля массы тела и клинических признаков, основанных на полуколичественной трехступенной оценочной системе: активный (+++), слабый (++) и умирающий (+). Кроме этого, регистрировали выпадение волос, их блеск, желтушность кожных покровов и общую гиподинамию, отказ от приема пищи, ориентацию положения тела в пространстве. Для изучения клинической характеристики экспериментальных животных нами исследовались симптомы печеночной энцефалопатии, так как последняя является наиболее опасным осложнением ОПечН и ведущей причиной смерти.

В процессе развития заболевания после введения раствора четыреххлористого углерода у животных в динамике наблюдалось в 1-2-е сутки развитие умеренной сонливости. Далее нарастали симптомы, соответствующие III степени печеночной энцефалопатии, которые заключались в сниженной двигательной активности, слабой ориентации положения тела в пространстве, появлялись хаотичные движения в пространстве и сниженного ответа на болевое раздражение. Также нами проводилась оценка динамики основных биохимических показателей при развитии острой печеночной недостаточности (таблица 2.2.).

Таблица 2.2. Динамика биохимических показателей у крыс с токсическим гепатитом -CCl<sub>4</sub> (M±m, n=28)

Показатели	1 контрол-ная группа (n=8)	1 основная группа (n=10)		2 основная группа (n=10)	
		3 сутки	5 сутки	3 сутки	5 сутки
билирубин общий, ммоль/л	8,87±0,35	17,26±0,84 <sup>a</sup>	42,27±1,33 <sup>a</sup>	11,33±0,86 <sup>б</sup>	11,6±4,3 <sup>в</sup>

АсАТ, У/л	129,51±5,67	370,81±26,8 <sup>а</sup>	436,82±7,18 <sup>а</sup>	190,9±21,3 <sup>б</sup>	146,82±11,6 <sup>в</sup>
АлаТ, У/л	115,20±3,19	376,21±9,59 <sup>а</sup>	445,53±9,17 <sup>а</sup>	276,21±29,8 <sup>б</sup>	178,8±16,4 <sup>в</sup>
Свободный аммиак, мкмоль/л	72,50±2,91	294,57±35,92 <sup>а</sup>	286,16±28,27 <sup>а</sup>	188,12±25,6 <sup>б</sup>	164,6±15,9 <sup>в</sup>

Примечание:  $p < 0,05$ : а - к исходным показателям (здоровые), б - к показателям 1 основной группы на 3 сутки, в - к показателям 1 основной группы на 5 сутки

Данные биохимических исследований показали, что у исследуемых животных 1 основной группы уже на 3 сутки уровень АлТ, АсТ, билирубин, свободный аммиак были в 3,3, 2,9, 2,1 и 4,0 раза выше по отношению к контрольной группе. У животных 2 основной группы которые получали сукцинат также наблюдалось повышение уровня данных биохимических показателей по сравнению с контролем, однако интенсивность повышения была в 1,6, 1,5, 1,4 и 1,9 раза ниже, чем в группе животных не получавших сукцинат (таблица 4.2). В динамике на 5-е сутки показатели АлТ, АсТ, билирубина, аммиака у животных 1 основной группы повысились еще больше, достигнув критических значений, в то время как во 2 основной группе напротив нами наблюдалось снижение уровня биохимических показателей, что свидетельствует о гепатопротекторных свойствах введенного препарата. Из общего количества крыс 1 основной группы умерло 8 (80%), в то же время как во 2 основной группе только 3 (30%), что в 2,6 раза ниже смертности животных, не получавших препарат.

### **2.3. Изучение клеточного дыхания у лабораторных животных .**

*2.3.1 Выделение митохондрий.* Печень крыс взвешивали, хорошо промывали в среде выделения, а затем продавливали через механический пресс. Последующую гомогенизацию проводили в 7-кратном объеме среды выделения, используя гомогенизатор Поттера-Эльвейема. Для удаления фрагментов ткани, неразрушенных клеток и ядер получившийся гомогенат

центрифугировали при  $600\times g$  в течении 10 минут на центрифуге Sigma 3-18 KS (Sigma Zentrifugen, Германия) (рисунки 4.3-4.10).



Рис 2.3. Здоровая печень белых беспородных крыс.



Рис. 2.4. Промывание печени в среде выделения.



Рис 2.5 Пораженная печень.



Рис 2.6. Продавливание через механический пресс.

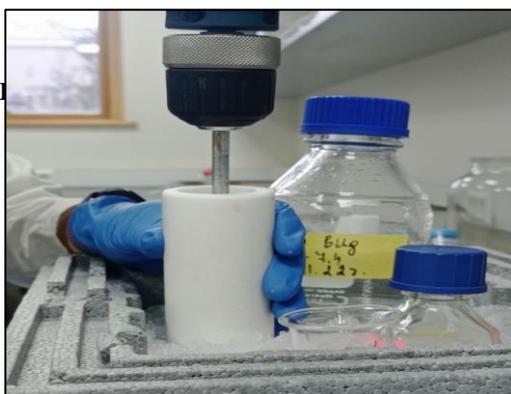


Рис 2.7. Гомогенизация.



Рис 2.8. Центрифугирование



Рис 2.9. Ресуспендирование осадка митохондрий в среде без ЭДТА



Рис 2.10. Помещение его на лед для дальнейшего использования

Осадок (митохондрии) ресуспендировался в 500  $\mu$ л среды выделения без ЭДТА и помещался на лед для дальнейшего использования.

Все процедуры проводились на льду для поддержания температуры не выше, чем  $+4^{\circ}$  C (рисунки 2.3-2.10).

### 2.3.2. Измерение окислительного фосфорилирования митохондрий

Измерение окислительного фосфорилирования митохондрий, методом полярографии является золотым стандартом оценки биоэнергетического статуса митохондрий. Применение различных метаболических субстратов, позволяет оценивать вклад разных участков входа электронов в дыхательную цепь, на общую биоэнергетическую активность митохондрий. В наших экспериментах мы использовали 3 разных конфигурации метаболических субстратов. В первой серии экспериментов мы использовали в качестве субстратов глутамат и малат. Применение данных субстратов позволяет дыхательной цепи работать в «полную мощность», задействуя 1 комплекс дыхательной цепи (NADH дегидрогеназу). Во второй серии мы использовали субстрат для второго комплекса дыхательной цепи (сукцинат дегидрогеназа) – сукцинат (рисунок 2.11). В третьей серии экспериментов мы комбинировали применение сукцината на фоне ингибирования активности NADH дегидрогеназы ротеноном. Эксперименты с митохондриями здоровых животных показали, что на фоне сукцината скорость дыхания была в 2-2.5 раза

выше скорости дыхания митохондрий в присутствии глутамата и малата во  
 ВСЕХ

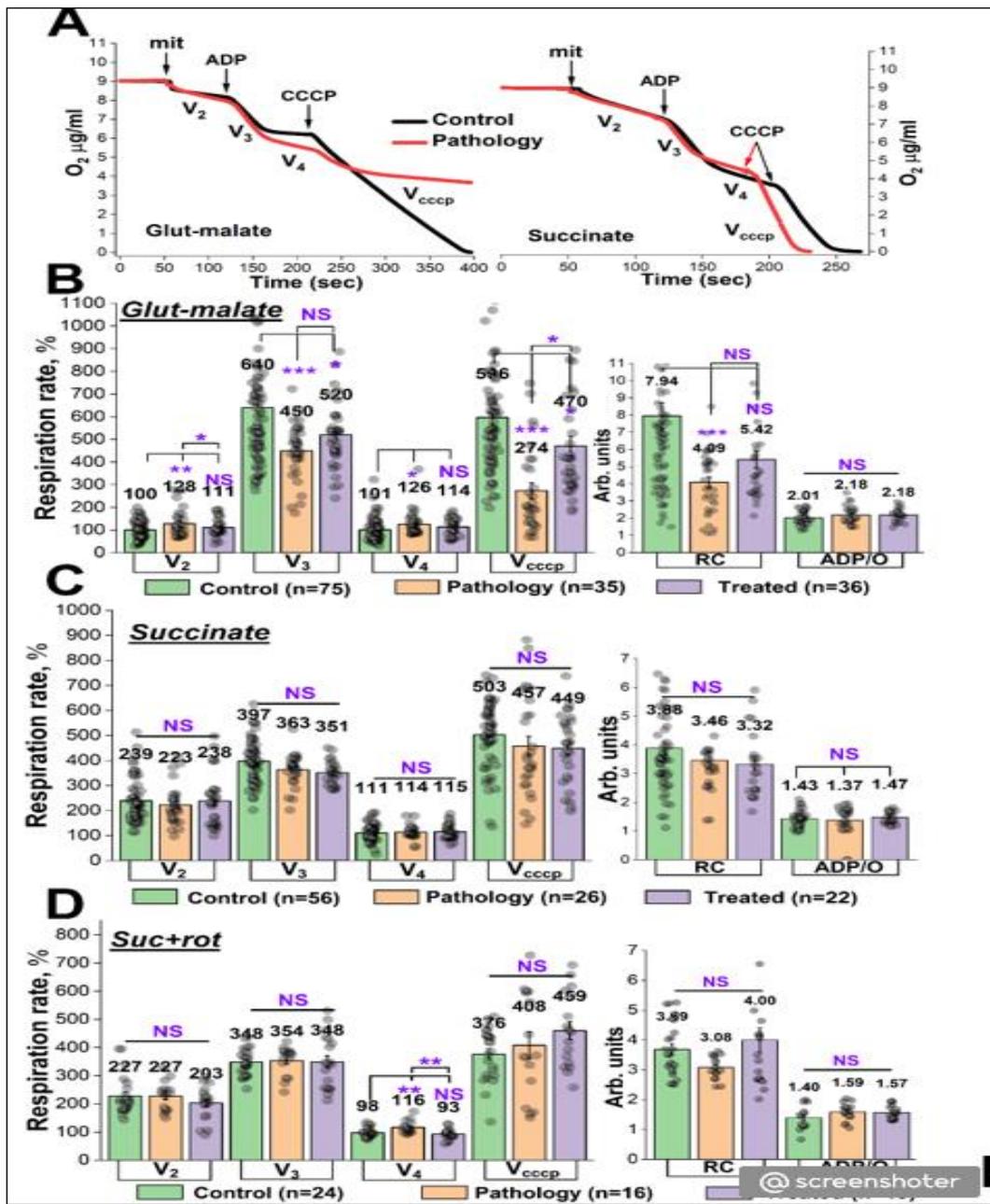


Рис.2.11. А. Дыхание митохондрий, изолированных от здоровых животных (черные кривые) и животных с острой печеночной недостаточностью (красные кривые) — репрезентативные эксперименты; В. Интоксикация СС1 4; С, D. Митохондрии, изолированные от группы патологии в присутствии сукцината (С) и сукцината+ротенона ( D ) в качестве энергетического субстрата. Скорость дыхания в V 2 в глутамат-малате IB в контрольных образцах принималась равной 100 %, все остальные скорости дыхания рассчитывались относительно этого параметра, \*p ≤ 0,05; \*\*p ≤ 0,01, \*\*\*p ≤ 0,001

Митохондрии, выделенные из группы патологии, имели значительные различия в биоэнергетике, основанной на использовании глутамата малата. Интоксикация, вызванная CCl<sub>4</sub>, вызвала значительное снижение частоты дыхания в глутамат-малате IB в V<sub>3</sub> и V<sub>сср</sub> и увеличение частоты дыхания в V<sub>4</sub>, что, как и ожидалось, привело к значительному снижению RC по сравнению с митохондриями в контрольной группе (рис 2.11 А и В).

Интересно, что те же митохондрии в сукцинате и сукцинате+ротеноне IB имели тот же респираторный паттерн, что и в контрольных образцах, дополненных сукцинатом. Единственные значительные изменения были обнаружены в частоте дыхания в V<sub>4</sub> в сукцинате+ротеноне IB (увеличение частоты дыхания) по сравнению с контролем, все остальные параметры не были существенно изменены (рис. 2.11 А, С). Значительных различий между эффектами сукцината и сукцината+ротенона IB не наблюдалось. Таким образом, в данной серии экспериментов мы показали, что интоксикация, вызванная CCl<sub>4</sub>, снижает дыхание митохондрий печени крыс на основе Комплекса I, но не на основе Комплекса II.

Чтобы понять, применима ли стратегия добавления Комплекса II на уровне организма, мы применили терапию метаболической добавкой на основе сукцината (полный состав можно найти в разделе «Материалы и методы») после введения CCl<sub>4</sub>. *In vivo* добавление сукцината увеличило V<sub>3</sub>, V<sub>сср</sub> и RC в глутамат-малатной группе IB по сравнению с группой патологии, таким образом, мы наблюдали четкую тенденцию к улучшению дыхания на основе глутамата-малата после лечения (рис. 2.11 В).

*In vivo* метаболическая добавка не оказала существенного влияния на митохондриальное дыхание в группах сукцината и сукцината+ротенона IB (рис. 2.11 С, D). Таким образом, с помощью этой серии экспериментов мы выявили, что интоксикация CCl<sub>4</sub> значительно влияет на дыхание, вызванное глутаматом-малатом. Те же митохондрии, дополненные сукцинатом во время эксперимента, показали нормальный характер дыхания по сравнению с митохондриями здоровых животных, дополненных сукцинатом. *In vivo*

добавление сукцината улучшило дыхание на основе глутамата-малата; однако, разница не была статистически значимой.

### 2.3.3. Изучение мембранного потенциала митохондрий.

Кислород является конечным акцептором электронов в цепи переноса электронов (ЕТС), основной задачей которой является генерация  $\Delta\Psi_m$ . Таким образом, в следующей серии экспериментов мы измерили  $\Delta\Psi_m$  в изолированных митохондриях (рис 2.12).

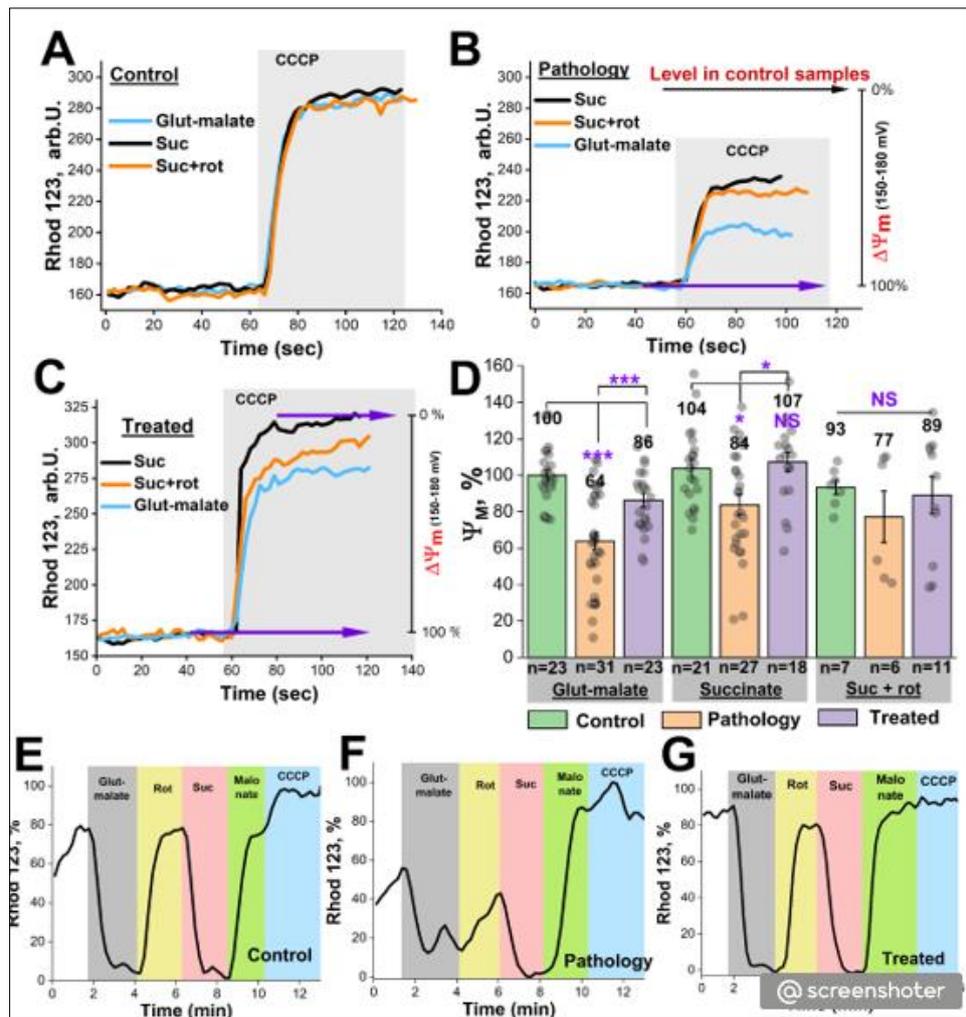


Рис. 2.12. Измерение  $\Psi_m$  в присутствии различных субстратов в митохондриях, выделенных от здоровых животных (A), животных с печеночной недостаточностью, вызванной СС1 4 (B), и животных из группы, получавшей лечение (C) – репрезентативные следы. D. Интоксикация СС1 4; E. Митохондрии здоровых животных при использовании глутамат-малат и сукцинат для генерации  $\Psi_m$  и применение ротенона малоната F. Интоксикация СС1 4 снизила способность митохондрий генерировать  $\Psi_m$  в присутствии глутамата-малата. G. Митохондрии из обработанной группы полностью восстановили свою способность использовать глутамат-малат для генерации  $\Psi_m$ , эффективность ротенона была такой же, как в контрольной группе. \* $p \leq 0,05$ ; \*\*\* $p \leq 0,001$ , NS – не значимо

Для оценки емкости  $\Delta\Psi_m$  мы применили митохондриальный разобщитель CCCP, который рассеивает  $\Delta\Psi_m$ . Митохондрии из контрольной группы успешно генерировали  $\Delta\Psi_m$  в присутствии всех видов субстратов (рис. 2.12 А).

Митохондрии из группы патологии имели сниженную  $\Delta\Psi_m$  в присутствии всех субстратов по сравнению с контролем (рис. 2.12 В).  $\Delta\Psi_m$  митохондрий из группы патологии была снижена на 36 % в глутамат-малатной ИВ, на 16 % в сукцинатной ИВ и на 23 % в сукцинатно-ротеноновой ИВ по сравнению с контролем (рис. 2.12 В, D).

Добавление сукцината *in vivo* значительно улучшило генерацию  $\Delta\Psi_m$  в присутствии глутамата-малата и сукцината.  $\Delta\Psi_m$  митохондрий из группы Лечения значительно увеличилось по сравнению с митохондриями из группы Патологии в глутамат-малате и сукцинате ИВ и имело тенденцию к увеличению в сукцинате+ротеноне ИВ, но не было статистически значимым. Чтобы понять кинетику генерации  $\Delta\Psi_m$  в различных условиях, мы применяли субстраты и ингибиторы во время эксперимента.  $\Delta\Psi_m$  митохондрий, инкубированных в ИВ без каких-либо субстратов, варьировалось в пределах 60-100 % (0 % полностью поляризованных митохондрий, 100 % полностью деполяризованных митохондрий). Применение глутамата-малата к здоровым митохондриям привело к полной поляризации митохондрий в течение 1 минуты эксперимента, ингибирование активности комплекса I ротеноном быстро снизило  $\Delta\Psi_m$  на 80-100%, дальнейшее применение сукцината снова поляризовало митохондрии в течение 1 минуты эксперимента, ингибирование комплекса II малонатом снизило  $\Delta\Psi_m$  сопоставимо с ротеноном, полная деполяризация митохондрий была достигнута добавлением CCCP (рисунок 2.12 Е). Эксперименты с митохондриями из группы патологии показали, что добавление глутамата-малата привело только к частичной поляризации митохондрий, более того, эффект ротенона был намного медленнее по сравнению с контролем и деполяризовал митохондрии только на 20-40% в течение 2 минут эксперимента, эффекты сукцината и малоната были

сопоставимы с контролем (рисунок 2.12 F). Генерация  $\Delta\Psi_m$  митохондрий из группы, получавшей лечение, в присутствии глутамата-малата была такой же, как и в контрольной группе, более того, ингибирование активности комплекса I ротеноном снижало  $\Delta\Psi_m$  с той же эффективностью, что и в экспериментах со здоровыми митохондриями (рисунок 2.12 G).

Таким образом, с помощью этой серии экспериментов мы подтвердили, что интоксикация  $\text{CCl}_4$  существенно влияет на зависимое от Комплекса I использование митохондриальных субстратов для генерации  $\Delta\Psi_m$ . Применение сукцината *in vitro* и *in vivo* значительно улучшает генерацию  $\Delta\Psi_m$  во время интоксикации  $\text{CCl}_4$ .

*2.3.4 Изучение митохондриального пула NADH и FAD<sup>+</sup> при острой тетрахлорметановой модели патологии печени.*

NADH и FADH<sub>2</sub> являются основными донорами электронов для цепи переноса электронов. NADH (никотинамидадениндинуклеотид) окисляется первым комплексом дыхательной цепи (НАДН-дегидрогеназа или НАДН:убихиноноксидоредуктаза) до  $\text{NAD}^+$ , а FADH<sub>2</sub> (флавинадениндинуклеотид) является кофактором фермента сукцинатдегидрогеназы, восстановление которого до FADH<sub>2</sub> является стадией окисления сукцината до фумарата и местом входа электронов в цепь переноса электронов на уровне комплекса II. Благодаря активности биоэнергетической системы молекулы NADH и FADH<sub>2</sub> постоянно меняют свое состояние с восстановленных на окисленные формы и наоборот. Оценка митохондриального пула окисленных/восстановленных молекул NADH и FADH<sub>2</sub> является полезным инструментом для дальнейшего понимания митохондриальной или клеточной биоэнергетики.

Наши эксперименты показали, что интоксикация  $\text{CCl}_4$  значительно увеличила окислительно-восстановительный индекс NADH и снизила митохондриальный пул NADH митохондрий из группы патологии по сравнению с контролем (рис. 2.13 A, B, D). Добавление сукцината *in vivo* (группа лечения) полностью восстановило окислительно-восстановительный

индекс NADH до контрольного уровня и значительно увеличило пул NADH по сравнению с митохондриями из группы патологии (рис. 2.13 А, В, С, D).

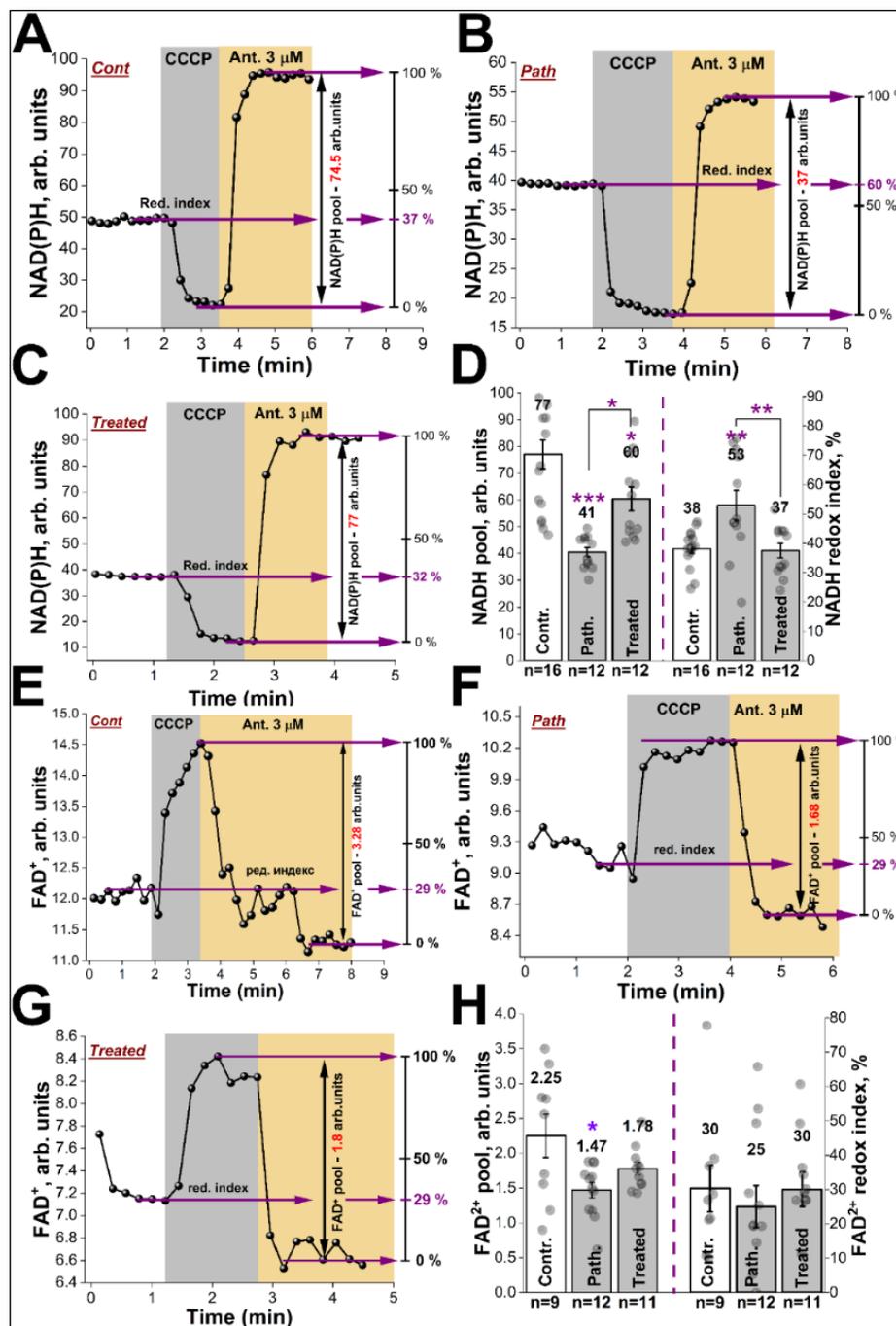


Рис. 2.13. Измерение аутофлуоресценции NAD(P)H в изолированных митохондриях контрольной группы ( А ), группы патологии ( В ) и группы лечения ( С ) – репрезентативные следы. D. Интоксикация CCl 4 снизила митохондриальный пул NADH на 47 %.. Измерение FAD 2+ Аутофлуоресценция в изолированных митохондриях контрольной группы ( Е ), группы патологии ( F ) и группы лечения ( G ) – репрезентативные следы. H. Интоксикация CCl 4 снизила митохондриальный пул FAD 2+ по сравнению с контролем, метаболическая обработка частично, но не значительно восстановила митохондриальный пул FAD 2+ . Интоксикация CCl 4 не оказала влияния на окислительно-восстановительный индекс FAD 2+ . Числа над столбиками указывают средние значения.

Измерение аутофлуоресценции FAD 2+ показало, что интоксикация CCl<sub>4</sub> значительно снизила митохондриальный пул FAD 2+, но не повлияла на окислительно-восстановительный индекс FAD 2+ (рис. 2.13 E, F, H). Метаболическая обработка немного увеличила митохондриальный пул FAD 2+ по сравнению с группой патологии (статистическая значимость отсутствует) и не оказала влияния на окислительно-восстановительный индекс FAD 2+ (рис. 2.13 E, F, G, H).

При нормальном функционировании клетки митохондрии имеют доступ к различным типам субстратов. Таким образом, чтобы убедиться, что сукцинат может улучшить митохондриальную биоэнергетику *in vitro*, во время интоксикации CCl<sub>4</sub> мы провели эксперименты в среде содержащей глутамат-малат + сукцинат. В первой серии экспериментов мы измерили митохондриальное дыхание в здоровых митохондриях, чтобы понять респираторный паттерн при совместном применении этих субстратов. Эксперименты со здоровыми животными (контрольная группа) показали, что в присутствии всех комбинаций субстратов митохондрии были полностью сопряжены и показывали нормальный уровень окислительного фосфорилирования, как это было описано ранее. Сам по себе сукцинат является менее энергетически ценным субстратом, поскольку окисление сукцината комплексом II не приводит к транспорту протонов в комплексе II. Таким образом, для генерации ΔΨ<sub>m</sub> митохондрии должны потреблять больше кислорода при использовании сукцината по сравнению с глутаматом-малатом, что мы и наблюдали в наших экспериментах (см. рис. 2.14). Скорость потребления кислорода в сукцинате IV была выше во всех функциональных состояниях (V<sub>2</sub>, V<sub>3</sub>, V<sub>4</sub> и V<sub>сср</sub>) по сравнению с глутаматом-малатом IV (см. рис. 2.14). Однако, как упоминалось ранее, дыхание в присутствии глутамата малата энергетически более эффективно, поэтому, когда скорости дыхания были нормализованы, используя V<sub>2</sub> как 100 % (см. раздел методов), мы могли видеть другую картину различий. Скорость дыхания в V<sub>2</sub> была в 2,4 раза выше, в V<sub>3</sub> – в 1,6 раза ниже, в V<sub>4</sub> и V<sub>сср</sub> – не было существенной

разницы в сукцинатном ИВ по сравнению с глутамат-малатным ИВ (рис. 2.14 А).  
А).

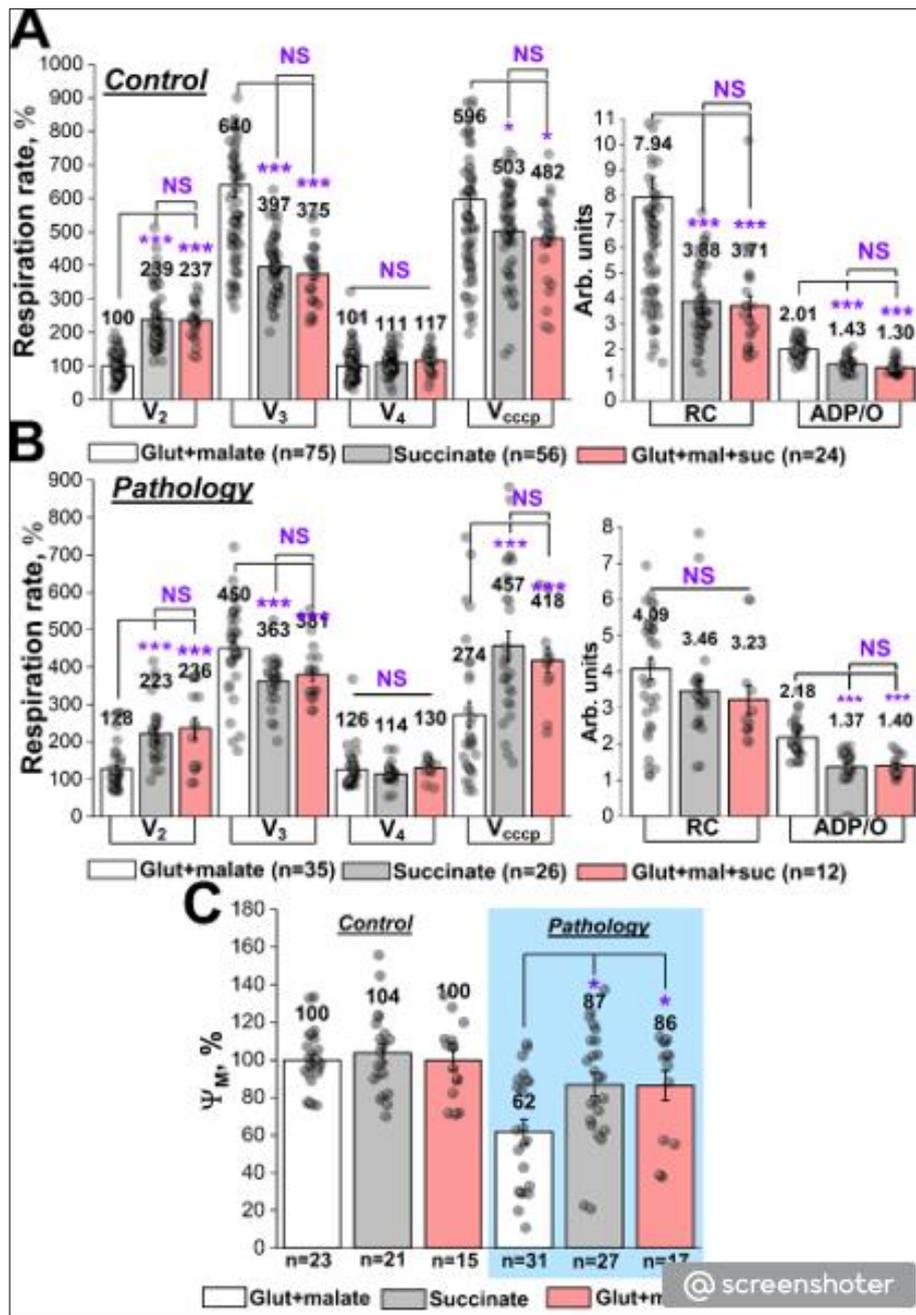


Рис. 2.14. Влияние совместного применения глутамата-малата с сукцинатом на биоэнергетику митохондрий во время острой интоксикации СС1 4. А. Сравнение митохондриального дыхания, основанного на различных митохондриальных субстратах, в контроле.. В. Совместное применение глутамата-малата и сукцината защищало митохондриальное дыхание во время острой интоксикации СС1 4, так же, как и в экспериментах с одним сукцинатом; С. Генерация  $\Psi_{M^+}$  в митохондриях группы патологии, в которую добавляли глутамат-малат + сукцинат, была такой же по сравнению с  $\Psi_{M^+}$  тех же митохондрий, в которые добавляли только сукцинат, и была значительно выше по сравнению с  $\Psi_{M^+}$  митохондрий, в которые добавляли глутамат-малат.

Таким образом, мы видим, что активация митохондриального дыхания во время окислительного фосфорилирования (состояние V<sub>3</sub>) более выражена в глутамат-малатном ИВ по сравнению с сукцинатным ИВ (рис. 2.14 А). АДФ/О также показывает, что глутамат-малат более эффективен по сравнению с сукцинатом (рис. 2.14 А).

Интересно, что совместное применение глутамата-малата и сукцината показало респираторный паттерн, очень похожий на одиночный сукцинат. Все скорости дыхания существенно не отличались от сукцинат ИВ и существенно отличались от глутамат-малат ИВ (рис. 2.14А, + рис. 2.11). Применение глутамат-малат + сукцинат ИВ для митохондрий из группы патологии не показало существенных различий по сравнению с митохондриальным дыханием в сукцинат ИВ (рис. 2.14 А и В). Таким образом, митохондриальное дыхание в глутамат-малат + сукцинат ИВ митохондрий из группы патологии было таким же по сравнению с митохондриальным дыханием в глутамат-малат + сукцинат ИВ здоровых митохондрий и по сравнению с митохондриальным дыханием митохондрий из группы патологии в сукцинат ИВ (рис. 2.14 А и В). Для проверки наших результатов мы измерили  $\Delta\Psi_m$  в глутамат-малате + сукцинате ИВ митохондрий из контрольной и патологической групп. Генерация  $\Delta\Psi_m$  в митохондриях из патологической группы значительно варьировалась в зависимости от субстратов. Генерация  $\Delta\Psi_m$  в митохондриях из патологической группы, дополненной глутаматом-малатом + сукцинатом, была такой же по сравнению с  $\Delta\Psi_m$  тех же митохондрий, дополненных только сукцинатом, и была значительно выше по сравнению с  $\Delta\Psi_m$  митохондрий, дополненных глутаматом-малатом (рис. 2.14 С).

**Выводы.** Резюмируя результаты данного исследования, можно прийти к следующим заключениям:

1. запуск биоэнергетики клетки через второй комплекс дыхательной цепи путем применения сукцината оказывает положительное влияние при

тетрахлорметановой модели патологии печени, что несомненно может рассматриваться в качестве терапевтической коррекции данной патологии.

2. При тетрахлорметановой модели патологии снижаются митохондриальные пулы NADH и FAD, а также редокс индекс NADH. Применение метаболического препарата, содержащего сукцинат способствовало восстановлению редокс индекса NADH и частичному восстановлению митохондриального пула NADH.

3. Данное исследование показывает положительную роль сукцинатов в лечении токсических поражений печени и дает фундаментальное обоснование для их применения в клинической практике как средство профилактики развития и интенсивной терапии на острой печеночной недостаточности на раннем этапе.

## ГЛАВА III. ИЗУЧЕНИЕ РАННИХ ПРЕДИКТОРОВ РАЗВИТИЯ ОСТРОЙ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ПРИ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЯХ И ЭНДОТОКСИКОЗАХ.

### 3.1. Материал и методы исследования.

#### Материал исследования:

1. Поведено проспективное исследование уровня свободного аммиака (аммония) как раннего маркера токсического поражения печени в соотношении с биохимическими показателями повреждения печени у 730 пациентов с острыми отравлениями гепатотоксичными ядами, тяжелыми ожогами и панкреонекрозами поступивших в 2021-2025 гг в РНЦЭМП. Исследование проводили с учетом выраженности патологического процесса на 1-е, 3-е сутки у больных с острыми отравлениями алкоголем и медикаментами, на 2-3-е (после снятия гемолиза) и 5-е сутки у пациентов с тяжелыми отравлениями уксусной кислотой и на 1-е, 12-е сутки у больных с тяжелыми ожогами, а также панкреонекрозами.

2. С целью изучения генетической предрасположенности к развитию токсических поражений печени совместно с генетической лабораторией Центра передовых технологий при Агентстве Инновационного развития РУз завершено исследование полиморфизма генов - rs1965 гена GSTP1 и rs2070676 гена CYP2E1. Всего изучены 312 пациентов с острыми отравлениями гепатотоксичными ядами, панкреонекрозами и тяжелыми ожогами поступивших в 2021-2024 гг в РНЦЭМП. Данные генетических исследований сопоставлялись с биохимическими показателями поражения печени.

3. С целью изучения клеточного иммунитета у больных с токсическими поражениями печени на фоне отравлений, тяжелых ожогов и панкреонекрозов в Институте Иммунологии и геномики человека АН РУз завершено иммунофенотипирование лимфоцитов крови человека путем изучения маркеров CD3, CD4, CD8 у 68 пациентов с острыми отравлениями гепатотоксичными ядами, панкреонекрозами и тяжелыми ожогами

осложненными токсическими поражениями печени. Исследование проводили с учетом выраженности патологического процесса на 5-е сутки у больных с острыми отравлениями и на 12-е сутки у больных с тяжелыми ожогами, а также панкреонекрозами.

4. Проведены морфологические исследования печеночной ткани и их интерпретация у 30 больных, умерших от ОПЕЧ на фоне отравлений, ожогов, панкреонекрозов методом световой микроскопии.

#### Методы диагностических исследований

1. Содержание уровня свободного аммиака определяли в венозной крови на автоматическом биохимическом анализаторе- BioSystems A15 (2018) с использованием реактивов и калибраторов этой же фирмы.

2. Выделение ДНК из клинических образцов и объектов окружающей среды было осуществлено на спин-колонках с использованием набора реагентов QIAamp DNA Blood (QIAGEN, Германия). Концентрацию и чистоту выделенной ДНК измеряли с использованием спектрофотометра BioSpec-nano (Shimadzu Biotech, Japan).

Определение полиморфизмов гена GSTP1 (rs1965) и CYP2E1 (rs2070676) проводили методом ПЦР в реальном времени с помощью набора реагентов TaqMan® Drug Metabolism Genotyping Assays (Thermo Fisher Scientific, США).

ПЦР амплификацию проводили на амплификаторе DT prime – (ДНК Технологии, Россия) и QuantStudio 5 (Applied Biosystems, США).

Программа ПЦР-амплификации включала следующие параметры для обеих генов:

1 цикл	95 °С	10 минут
50 циклов	92 °С *60 °С	15 секунд 90 секунд

3. Иммунофенотипирование проведено методом лазерной цитофлуориметрии на проточном цитометре BD FACS Canto II (Becton Dickinson, США) с использованием системы моноклональных антител Multitest 6-Color TBNK Reagent в пробирках BD TruCount (Becton Dickinson, США). Для лизиса эритроцитов и фиксации лейкоцитов использовался BD FACS TM Lysing Solution (Becton Dickinson, США). Относительное и абсолютное содержание популяций и субпопуляций лимфоцитов определялось в программе Canto (Becton Dickinson США) с выделением общей Популяции - Т-хелперы (CD3+CD4+CD8-), а также вычисляли соотношение субпопуляций CD4+/ CD8

4. Морфологические исследований печеночной ткани проводили в Республиканском научно-практическом центре судебно-медицинской экспертизы, отделе морфологических судебно-медицинских экспертиз. Для морфологического исследования образцы печени фиксировали в 10%-м растворе формалина, подвергали стандартной спиртовой проводке и окрашивали гематоксилином и эозином.

### **3.2. Результаты исследования.**

*3.2.1. Изучение роли свободного аммиака в диагностике токсического поражения печени при острых отравлениях и эндотоксикозах.*

Из общего числа исследуемых пациентов 545 (74,7%) больных было с острыми отравлениями, 114 (15,6%) больных с ожогами и 71 (9,7%) с панкреонекрозами. Распределение больных по нозологиям представлено в диаграмме 3.1.



Рисунок 3.1 - Распределение больных с токсическими гепатитами по основным нозологиям, n=750.

Среди пациентов с острыми отравлениями гепатотоксичными ядами преобладали больные с алкогольной интоксикацией – 395 пациентов, а также отравлениями гепатотоксичными медикаментами (парацетамол, альбендазол, изониазид) – 96 пострадавших и тяжелые отравления уксусной кислотой осложненные токсическим гепатитом – 54. Среди пациентов с ожогами преобладали пострадавшие с обширными и глубокими ожогами и индексом Франка свыше 60 ЕД. У больных с поражением поджелудочной железы преобладали геморрагические и жировые формы панкреонекрозов осложненных повреждением печени.

Из общего количества исследуемых больных умерло 78 (10,6%), в том числе 37 пациентов с отравлениями алкоголем, 5 с отравлениями парацетамолом, 12 с отравлениями уксусной кислотой, 13 с тяжелыми ожогами и 11 с панкреонекрозами. Основная причина смерти больных это полиорганная недостаточность, включая острую печеночную недостаточность.

Демографические показатели представлены в таблице 3.1

Таблица 3.1 - Демографические показатели проспективной группы больных (n=730)

Параметры	Острые отравления n=545	Тяжело - обожженные n=94	Панкрео-некрозы n=71
Средний возраст, лет	43,9±9,6	38,8±7,2	38,6±8,4
Мужчин, n (%)	335 (61,4%)	53 (56,3%)	44(61,9%)
Женщин n (%)	210 (39,6%)	41 (43,7%)	27 (39,1%)

Как видно из таблицы среди пациентов всех групп преобладали больные мужского пола в наиболее социально активном возрасте от 28 до 47 лет.

Результаты изучения уровня свободного аммиака в сопоставлении с данным других биохимических показателей токсических гепатитов представлены в таблицах 3.2., 3.3.

Таблица 3.2 - Биохимические показатели у больных отравлениями гепатотоксичными ядами (n=545) (M±m)

Показатель, единицы измерения, норма	Острые отравления алкоголем n=395		Острые отравления медикаментами n=96		Острые отравления уксусной кислотой n=54	
	1 сутки	3 сутки	1 сутки	3 сутки	3 сутки (после снятия гемолиза)	7 сутки
Свободный аммиак	203,5±42, 6	112,7±9, 8	158,9±16, 3	133,2±15, ,3	292,8±18, 6	303,9±41, 2

МКМОЛЬ/Л, 33-60							
АлТ, у/л, 0-42	86,2±16,4	50,9±9,7	85,6±9,0	98,8±11,6	116,8±29, 8	138,1±18, 4	
АсТ, у/л, 0-37	61,3±8,6	58,9±12, 5	74,5±18,9	102,6±7,4	105,9±8,4	118,2±15, 3	
ЛДГ, у/л, 313-618	739,5 ± 49,2	533,6 ± 48,9	677,1 ± 30,4	795,7 ± 37,2	784,8 ± 66,5	812,9 ± 34,9	
ЩФ, у/л, 38-126	197,3±33, 8	145,5±8, 0	175,9±41, 9	123,7±19, 5	183,6±22, 4	219,1±18, 6	
Билирубин , у/л, 8,55-20,5	21,9±5,6	17,8±3, 9	27,9±4,5	28,1±5,1	28,6±3,1	28,3±6,5	

Согласно полученным данным у пациентов поступивших с токсическими гепатитами на фоне алкогольной интоксикации при поступлении отмечалось значительное повышение свободного аммиака – в 3,3 раза выше верхнего предела нормы, при этом АлТ, АсТ, ЛДГ, ЩФ были умеренно повышены в 2,0, 1,4, 1,4, 1,6 раза а билирубин был в пределах нормы. В динамике на фоне лечения уровень свободного аммиака сохранялся на уровне в 1,8 раза выше нормы, в то время как уровень остальных печеночных показателей практически приблизился к нормальным показателям. Что касается больных с отравлениями гепатотоксичными медикаментами мы наблюдали аналогичную картину при поступлении – гипераммониемию с уровнем свободного аммиака в 2,3 раза выше верхнего предела нормы, однако из остальных показателей мы наблюдали только незначительное повышение ферментов АлТ, АсТ – в 1,3 раза выше нормы. В дальнейшем, на 5-е сутки, уровень аммония был также в 2,1 раза выше нормы, что коррелировало с показателями АлТ, АсТ, ЛДГ, ЩФ и билирубина (таблица 3.2.).

У пациентов с отравлениями уксусной кислотой отмечались более выраженные признаки токсического гепатита чем при других отравлениях что связано с прямым повреждающим кислоты и гемолизированной крови на гепатоциты. Это выражалось в повышении уровня аммония в 4,9 раза, АлТ, АсТ, ЛДГ, ЩФ, билирубина в 2,3, 2,4, 1,3, 1,4, 1,3 раза выше нормы, а в динамике эти же показатели увеличились до 5,1, 3,1, 2,7, 1,3, 1,4, 1,3 раза выше нормы, что свидетельствовало о нарастании интоксикации и токсического поражения печени.

Интересные данные были получены при изучении показателей печени у пациентов с эндотоксикозами развившимися в результате тяжелых ожогов и панкреонекрозов (таблица 3.3).

Таблица 3.3 - Биохимические показатели у больных тяжелыми ожогами и панкреонекрозами (n=165) (M±m)

Показатель, единицы измерения, норма	Тяжело -обожженные n=94		Панкрео-некрозы n=71	
	1 сутки	12 суток	1 сутки	12 суток
Свободный аммиак мкмоль/л, 33-60	278,6±37,8	488,6±44,3	172,7±21,8	319,6±29,4
АлТ, у/л, 0-42	66,8±9,5	142,5±7,9	56,4±9,2	118,4±7,4
АсТ, у/л, 0-37	59,2±7,7	134,3±15,4	48,2±9,3	98,1±8,6
ЛДГ, у/л, 313- 618	407,4±72,5	603,1±19,8	319,6±66,4	530,7±29,6
ЩФ, у/л, 38-126	156,7±19,6	212±36,8	118,6±17,5	169,6±15,2
Билирубин, у/л, 8,55-20,5	23,4±3,2	26,5±3,2	28,9±5,9	36,9±9,9

Данные биохимических исследований показали, что у тяжелообожженных уже в первые сутки при наличии относительно незначительных изменений в традиционных биохимических показателях уровень свободного аммиака превышал верхний предел нормы в 4,4 раза, а в динамике, в период ожоговой токсемии аммоний повысился до 8,1 раза выше верхнего предела физиологической нормы. Уровень АлТ, АсТ, при этом превысил нормальные показатели всего в 3,4, 3,1 раза, ЩФ в 1,7 раза, а показатели ЛДГ и билирубина оставались практически в пределах нормы. При этом сверхвысокий уровень свободного аммиака у тяжелообожженных соответствовал тяжести клинических симптомов интоксикации.

У пациентов с панкреонекрозами при изучении биохимических показателей поражения печени в первые сутки с момента поступления мы также наблюдали картину незначительной ферментопатии в виде повышения показателей АлТ и АсТ в 1,3 и 1,2 раза, при этом уровень свободного аммиака превышал норму в 2,9 раза, а в динамике данный показатель повысился до 5,3 раза выше нормы при относительно незначительном увеличении уровня АлТ и АсТ и ЩФ. Уровень ЛДГ и билирубина при этом оставался в пределах нормы как при поступлении так и в динамике.

Резюмируя полученные нами данные что несмотря на различие первичных факторов поражения печени как экзогенной, так и эндогенной этиологии, мы наблюдали в первую очередь нарушение дезинтоксикационной функции печени, включая процесс обезвреживания аммиака. Повышение уровня свободного аммиака может служить ранним маркером токсического поражения печени, а также начала развития печеночной недостаточности. Сверхкритический уровень аммония который наблюдается у пациентов с ожогами, отравлениями алкоголем, уксусной кислотой требует значительного пересмотра лечебной тактики у данной категории пациентов и включения в состав интенсивной терапии препаратов обладающих гепатопротективными, аммиаксвязывающими свойствами.

### *3.2.2. Влияние генетического полиморфизма семейств цитохром P-450 и глутатион-S-трансферазы на тяжесть развития токсических гепатитов при острых отравлениях и эндотоксикозах*

312 исследуемых образцов были поделены на три группы: острые отравления 218 пациентов (142 больных с токсическим гепатитом на фоне алкогольной интоксикации, 40 больных с отравлениями уксусной кислотой, 36 больных с отравлениями парацетамолом, альбендазолом, изониазидом), 49 - пациентов с тяжелыми термическими ожогами IIIa-IV степени и 45 с панкреонекрозами. Умерло из них 33 (10,5%).

Мужчин было 216 (67,2%), женщин 96 (32,8%).

Результаты исследования гена GSTP1 (rs1965) показали, что генотип A/A (гомозигота по аллелю A) выявлен у 90 (28,8%) больных генотип A/G (гетерозигота) выявлен у 147 (47,1%) больного, генотип G/G (гомозигота по аллелю G) выявлен у 75 (24,1%) больных (рис. 3.2 и 3.3). Полиморфизм rs1695 является однонуклеотидным вариантом (SNP), который отвечает за замену аминокислоты изолейцин на валин в 105 положении аминокислотной цепи белка GSTP1, что приводит к стерическому изменению в субстрат связывающем домене фермента, который возможно влияет на конечную субстратную специфичность, что объясняет незначительное повышение концентрации глутатиона в качестве субстрата для этого фермента. Кроме того, активность GSTP повышает интенсивность разрушения в клеточной мембране. Снижение количества глутатиона в качестве субстрата для фермента GSTP1 влияет на уровень пероксидации ферментов. Соответственно, пациенты с полиморфными вариантами rs1695 могут быть более чувствительны к оксидативному стрессу, особенно это касается ксенобиотиков и эндотоксинов, которые обезвреживаются путем 2 фазы биотрансформации.

Результаты исследования гена CYP2E1 (rs2070676) показали, что генотип C/C (гомозигота по аллелю A) выявлен у 158 (50,6%) больных, генотип G/C (гетерозигота) у выявлен у 84 (26,9%) больного, генотип G/G

(гомозигота по аллелю G) выявлен у 70 (22,4%) больных. Полиморфизм rs2070676 повышает активность фермента CYP2E1, соответственно повышая уровень метаболизма его субстратов в токсичные метаболиты. Кроме того, данный полиморфизм ассоциирован с повышенным риском изониазидиндуцированной гепатотоксичности.

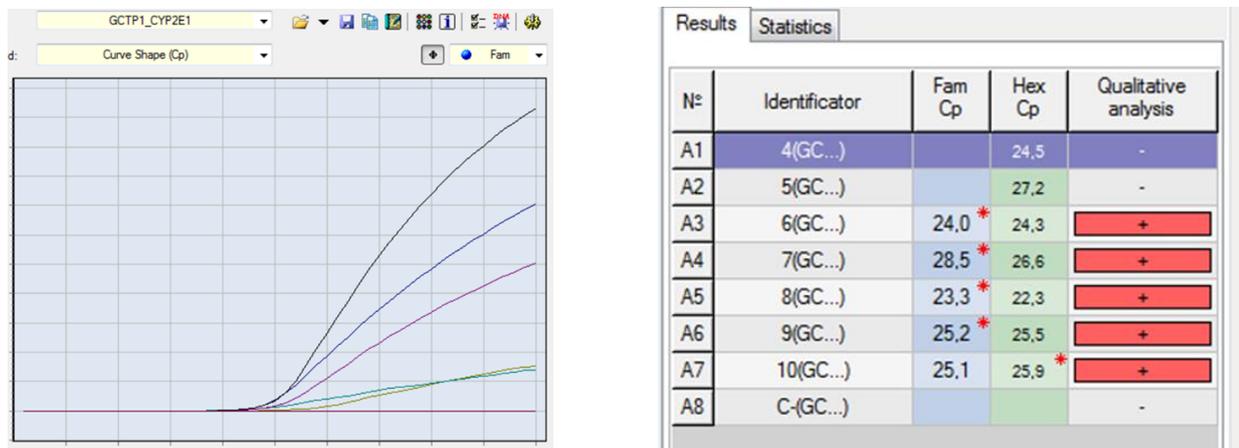


Рисунок 3.2. Результаты ПЦР в реальном времени по определению генотипов гена GSTP1 (rs1965) по каналу детекции FAM.

В результате некоторых исследований показано влияние данного полиморфизма на повышение уровня метаболизма ацетаминофена в N-ацетил P-бензохинонимин, при этом повышая риск его гепатотоксичности. Исходя из этого, пациенты, получающие терапию ацетаминофеном или изониазидом могут быть подвержены неблагоприятной лекарственной реакции.

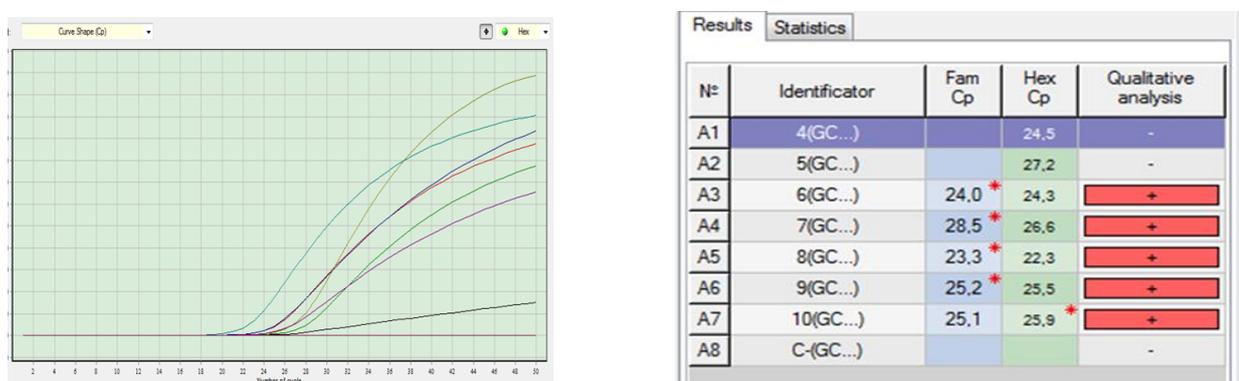


Рисунок 3.3. Результаты ПЦР в реальном времени по определению генотипов гена GSTP1 (rs1965) по каналу детекции HEX (VIC).

Интересные данные нами получены при сопоставлении биохимических показателей а также летальности и результатов молекулярно-генетического исследования (таблица 3.4.).

Согласно полученным данным, у пациентов имеющих гомозиготный тип по аллелю А rs1965 гена GSTP1 и rs2070676 гена CYP2E1 данные биохимических показателей практически не отличались от пациентов имеющих гетерозиготный генотип этих же генов (таблица 3.4).

У больных, имеющих генотип G/G (гомозигота по аллелю G) гена GSTP1, мы наблюдали значительное повышение свободного аммиака, а также печеночных показателей АлТ, АсТ, ЩФ не только по сравнению с нормой но и показателями пациентов имеющих гомозиготный тип по аллелю А – в 1,5, 1,7, 1,7, 1,8 раза выше соответственно. Что касается пациентов имеющих генотип G/G гена CYP2E1, то у них также отмечалось критическое повышение свободного аммиака и показателей ферментов АлТ, АсТ, ЩФ печени были выше чем у исследуемых с гомозиготным типом по аллелю С – в 2,2, 1,7, 1,7, 1,8 раза соответственно (таблица 3.4).

Исследования таких показателей как ЛДГ и билирубина показали отсутствие значимого их повышения по отношению к верхнему пределу нормы у всех групп пациентов (таблица 3.4).

Таблица 3.4 - Биохимические показатели и летальность у больных в зависимости от вариантов генотипа генов GSTP1 и CYP2E1 (n=315)

Показатель, единицы измерения, норма	rs1965 гена GSTP1			rs2070676 гена CYP2E1		
	A/A n=90 (28,8%)	A/G n=147 (47,1%)	G/G n=75 (24,1%)	C/C n=158 (50,6%)	G/C n=84 (26,9%)	G/G n=70 (22,4%)
Свободный аммиак мкмоль/л, 33-60	164,9±37,3	159,2±11,4	229,8±28,8*	158,7±23,9	156,9±25,6	259,9±46,7*
АлТ, у/л, 0-42	80,6±9,3	86,3±15,9	150,4±228*	97,5±10,6	97,1±13,4	164,8± 12,6*
АсТ, у/л, 0-37	71,5±7,7	88,8±11,6	148,2±20,2*	95,2±7,5	95,2±8,6	166,8 ±15,2*
ЛДГ, у/л, 313-618	646,9±83,1	634,2±41,3	672,5±44,6*	565,6±72,5	586,1±65,1	602,1±30,4*
ЩФ, у/л, 38-126	139,5±11,8	140,6±15,5	205,3±20,6*	149,5±12,5	141,2±22,2	185,9±17,1*
Билирубин, у/л, 8,55-20,5	21,7±3,8	23,4±3,3	20,9±1,8	24,4±3,4	24,1±2,6	25,8±4,1
Умершие/летальность	7 (7,7%)	6 (4%)	20 (26,6%)	6 (3,7%)	6 (7,1%)	21 (30%)

\* –  $p < 0,05$  по сравнению с группой пациентов имеющих нормальный генотип (гомозигота A/A и C/C)

Анализ летальности показал определенную умеренную разницу между группами с генотипами A/A, A/G и C/C, G/C – 7,7, 4% и 3,7, 7,1% однако из числа пациентов с генотипом G/G гена GSTP1 умерло 20 (20,6%), а из 70 больных с генотипом G/G гена CYP2E1 умер 21 пациент, что составило 30% а это в разы превосходит летальность у исследуемых с нормальными генотипами генов GSTP1 и CYP2E1.

Из общего количества пациентов с токсическими гепатитами имеющих полиморфизм изучаемых нами генов (гомозигота по аллелю G), у 21 выявлена мутация по обоим генам, в связи с чем нами исследованы биохимические показатели и летальности у данной категории больных (таблица 3.5).

Полученные данные свидетельствуют о достаточно высоких показателях свободного аммиака, АлТ, АсТ, значительно превышающих показатели у исследуемых с аллелями A/A, A/G, C/C и G/C.

Таблица 3.5. Биохимические показатели и летальность у больных с полиморфизмом по обоим генам GSTP1 и CYP2E1(n=21)

Показатель, единицы измерения, норма	Аллель G/G rs1965 гена GSTP1 и rs2070676 гена CYP2E1, n=21
Свободный аммиак мкмоль/л, 33-60	392,5±38,0
АлТ, у/л, 0-42	212,2±21,81
АсТ, у/л, 0-37	216,5±26,4
ЛДГ, у/л, 313-618	738,6±58,9
ЩФ, у/л, 38-126	245±22,72
Билирубин, у/л, 8,55-20,5	28,5±2,93
Умершие/летальность	8 (38,0%)

Из общего количества таких больных умерло 8 (38,0%), таким образом, вероятность развития тяжелого токсического гепатита с летальным исходом наиболее высока именно у пациентов с мутацией по обоим генам.

Таким образом проведенное исследование подтверждает, что риск развития и характер течения токсического гепатита во многом

детерминируются генетическим компонентом. Установлено влияние полиморфизма rs1965 гена GSTP1 и rs2070676 гена CYP2E1 на тяжесть токсического гепатита не только при отравлениях гепатотоксичными ядами, но и при эндогенной интоксикации на фоне тяжелых ожогов и панкреонекрозов. Предварительные исследования показали, что наиболее тяжелое и прогностически неблагоприятное течение токсического гепатита развивается на фоне полиморфизма по обоим изучаемым генам. Полученные данные подтверждают нарастающую значимость фармакогенетики для определения предрасположенности к токсическому повреждению печени в раннем возрасте.

### 3.2.3. Изучение иммунного статуса организма при токсических поражениях печени на фоне острых отравлений и эндотоксикозов

Пациенты были распределены следующим образом: 1-группа, 26 больных - с острыми отравлениями (16 с алкогольными гепатитами, 10 с отравлениями гепатотоксичными медикаментами - парацетамол, изониазид), 2-группа, 20 больных - с панкреонекрозами и 3-группа состояла из 22 тяжелообожженных пациентов. Контрольной группой послужили 8 здоровых добровольцев (таблица 3.6).

Таблица 3.6. Субпопуляционный состав Т-лимфоцитов у обследованных пациентов, n=68, M±m

Показатель	Контроль n=8	1-группа n=26	2-группа n=20	3-группа n=22
CD3+, %	61,2±1,25	46,3±5,13***	42,8±0,61***	50,0±2,88**
CD4+, %	33,2±0,91	39,05±1,96**	38,89±3,29**	34,30±3,19^
CD8+, %	20,4±0,92	29,58±2,47^	35,4±1,95**	36,2±0,56***
CD4/ CD8	1,65±0,11	1,34±0,07***	1,08±0,05***	0,94±0,07***

Примечание: \* - достоверно по сравнению с данными контрольной группы (\* - P<0,05, \*\* - P<0,01, \*\*\* - P<0,001), ^ - не достоверно по сравнению с данными контрольной группы, (^ - P>0,05)

Нами изучен субпопуляционный состав Т-лимфоцитов, представленный относительным числом (%) CD3+, CD4+, CD8+ маркеров, а также индексом иммунорегуляции (таблица 3.6)

Анализ относительного числа зрелых Т-лимфоцитов установил угнетение иммунной системы во всех исследуемых группах по сравнению с таковой контрольной группы. Так, общий пул Т-лимфоцитов (CD3+), «отвечающих» за реакции клеточного иммунитета и осуществляют иммунологический надзор за антигенным гомеостазом в организме в 1- группе пациентов был снижен на 25,2%, во 2-группе - на 27,6%, а в 3-группе на 19,1% по сравнению с группой контроля, где данное значение в среднем составило  $61,2 \pm 1,25$  (табл. 3,6).

Как правило, снижение CD3+-лимфоцитов в крови свидетельствует о недостаточности клеточного иммунитета. Развитие любого воспалительного процесса сопровождается практически на всем его протяжении снижением содержания Т-лимфоцитов. Это наблюдается при воспалениях самой разнообразной этиологии: различных инфекциях, неспецифических воспалительных процессах, при разрушении поврежденных тканей и клеток после операции, травмы, ожогов, инфаркта, разрушении клеток злокачественных опухолей, трофических разрушениях и т. д. Также снижение общего количества Т-лимфоцитов может свидетельствовать об иммунодефицитных состояниях, при резком увеличении доли И-лимфоцитов при Th2 типе иммунного ответа.

Т-хелперы (CD4+) — индукторы иммунного ответа, регулирующие силу иммунного ответа организма на чужеродный антиген, контролирующие антигенный гомеостаз и обуславливающие повышенную выработку антител. Т-хелперы/индукторы (CD4+) относятся к регуляторным клеткам, без которых невозможна трансформация В-лимфоцитов в плазматические клетки, образующие антитела. Они также способны усиливать клеточные реакции иммунной системы.

Неоднозначные данные были получены при изучении относительных значений лимфоцитов с данным фенотипом. Анализ относительного числа Т-хелперов выявил статистически значимую тенденцию повышения CD4+ клеток в 1-ой и 2-ой группах, а в 3-ей группе хоть и наблюдалось повышение, но оно было недостоверным по сравнению с контрольной группой. Так, в 1-группе пациентов среднее значение относительного числа Т-хелперов было выше контроля на 18,2%, во 2-группе – на 17,6%, а в 3-группе – всего на 3% ( $P > 0,05$ ) по сравнению с таковой контрольной группы  $33,2 \pm 0,91$  (таблица 3,6).

Полученные результаты позволяют нам предположить, что дефицит популяции Т-лимфоцитов отразился и на уровне клеток с хелперной активностью. Несмотря на положительную динамику повышения Т-хелперных клеток у пациентов во всех группах, данные указывают все еще об иммунологической недостаточности.

Другая группа регуляторных Т-лимфоцитов - Т-супрессоры (CD8+) способны тормозить слишком сильные и слишком затянувшиеся иммунологические реакции. Т-супрессоры тормозят выработку антител (различных классов) вследствие задержки пролиферации и дифференцировки В-лимфоцитов, и развитие гиперчувствительности замедленного типа. При нормальном иммунном ответе на попадание в организм чужеродного антигена максимальная активация Т-супрессоров отмечается спустя 3–4 недели.

Оценка относительного числа CD8+ установила повышенные значения во всех группах пациентов. Так, в 1-группе больных данный показатель в среднем составил  $29,58 \pm 2,47$  ( $P > 0,05$ ), во 2-группе -  $35,4 \pm 1,95$  ( $P < 0,01$ ), а в 3-группе -  $36,2 \pm 0,56$  ( $P < 0,001$ ) против контроля  $23,4 \pm 0,92$  (табл. 3,6).

Мы предполагаем, что увеличение относительного числа цитотоксических CD8+ в крови свидетельствует о недостаточности иммунитета, снижении гиперактивности иммунной системы. Аналогичные изменения наблюдаются при опухолевом росте, поствакцинальном периоде, а также в зарубежных исследованиях при аллотрансплантации.

Ведущее значение в оценке состояния иммунной системы имеет соотношение хелперов и супрессоров в периферической крови — индекс CD4/CD8.

Согласно полученным результатам, изменения субпопуляционного состава отразились и на индексе иммунорегуляции (CD4/CD8) во всех группах обследованных пациентов. Анализ показателей иммунорегуляционного индекса определил сниженные относительно одинаковые показатели по сравнению со значениями контрольной группы. В 1-группе пациентов индекс составил  $1,34 \pm 0,07$  ( $P < 0,001$ ), во 2-группе -  $1,08 \pm 0,05$  ( $P < 0,001$ ) и в 3-группе  $0,94 \pm 0,07$  ( $P < 0,001$ ), а в контрольной группе  $1,65 \pm 0,11$  (табл. 3,6).

Сниженный индекс иммунорегуляции, односторонне связан относительно пониженным числом Т-хелперных клеток и повышенным числом Т-супрессорных клеток, за счет изменения общего пула зрелых Т-лимфоцитов, что приводит к угнетению Т-клеточного звена иммунной системы.

Таким образом, предварительный анализ клеточного иммунитета у пациентов с токсическим поражением печени на фоне острых отравлений показал умеренное его снижение и выраженный иммуносупрессивный характер воздействия тяжелых ожогов, панкреонекрозов на организм, что требует в дальнейшем включения в комплексное лечение данных патологий препаратов обладающих иммуностимулирующими свойствами.

#### *3.2.4. Морфологические особенности поражения печени при различных этиологических вариантах острой печёночной недостаточности*

Проведены морфологические исследования печеночной ткани и их интерпретация у 30 больных, умерших от ОПЕЧ на фоне отравлений, ожогов методом световой микроскопии.

Из общего числа погибших 15 было с тяжелой алкогольной интоксикацией (1-я группа), 5 в результате критических отравлений уксусной кислотой (2 группа) и 6 умерших вследствие тяжелых ожогов (3-я группа) и 6 погибло от панкреонекрозов (4-я группа).

При анализе структуры печеночной ткани у больных 1-й группы, умерших вследствие алкогольной интоксикации, были выявлены выраженные деструктивно-дистрофические изменения. Это проявлялось значительным увеличением зон некроза, занимавших от 10 до 18% общей исследуемой площади печени. Наряду с разрушением гепатоцитов наблюдалась выраженная мезенхимально-клеточная реакция, особенно выраженная в портальных трактах, где фиксировалось скопление мононуклеарных клеток. Трабекулярная структура гепатоцитов была нарушена — клетки располагались хаотично, синусоиды были значительно сужены. Отмечалось расширение крупных портальных трактов, вызванное разрастанием соединительной ткани и ее насыщением воспалительным инфильтратом, преимущественно представленным лимфоцитами. В некоторых портальных трактах наблюдались некротические изменения сосудов, стенки которых становились плохо различимыми (см. рис. 3.5).

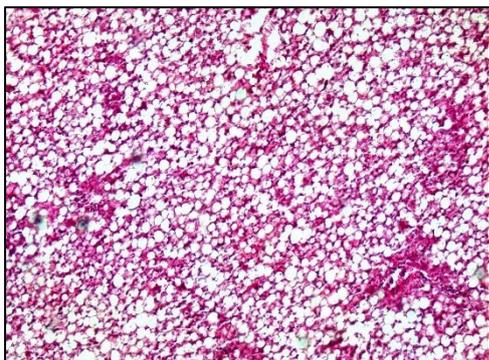


Рис. 3.4. Морфологическая картина печени больного А. ОПечН на фоне алкогольной интоксикации. Зона мелкокапельной жировой дистрофии. x100

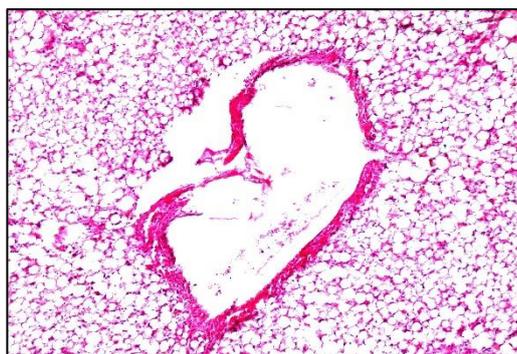


Рис. 3.5. Морфологическая картина печени больного Б. ОПечН на фоне алкогольной интоксикации. Склероз стенок центральных вен, вокруг диффузная жировая дистрофия. x100

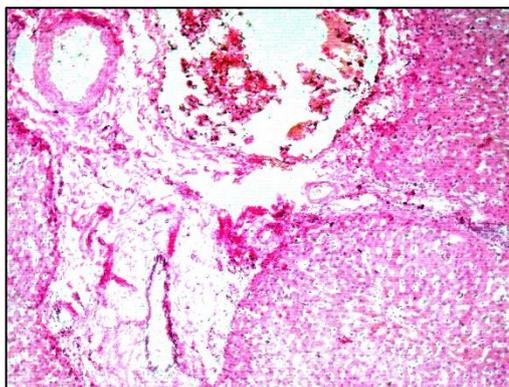


Рис. 3.5. Морфологическая картина печени больного Б. ОПечН на фоне алкогольной интоксикации. Печеночная триада. Клетки Каунсильмена. Деструкция желчных протоков. Клетки x100

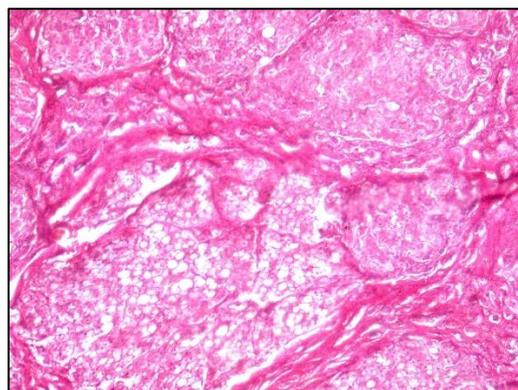


Рис. 3.6. Морфологическая картина печени больного С. ОПечН на фоне хронической алкогольной интоксикации. Алкогольный гепатит с переходом в цирроз печени. Клетки x100

Выявлялась деструкция желчных протоков. В гепатоцитах имело место избыточная жировая и гидropическая дистрофия, а также воспалительные инфильтраты (рис. 3.4, 3.5). Следовательно, на используемой модели морфологически выявлена картина острого поражения структуры печени, которая является гистологическим отображением ОПечН.

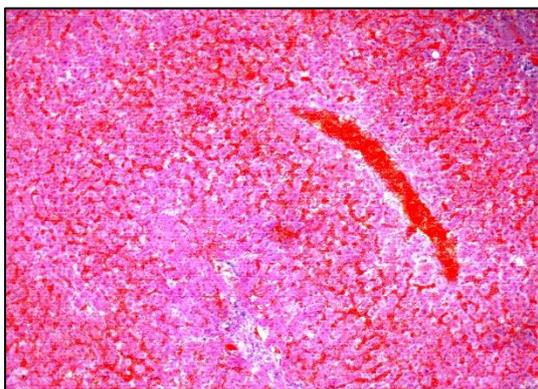


Рис. 3.7. Морфологическая картина печени больного Д. ОПечН на фоне тяжелого отравления уксусной кислотой. Полнокровие и резкое расширение капилляров. Очаговые кровоизлияния. x100

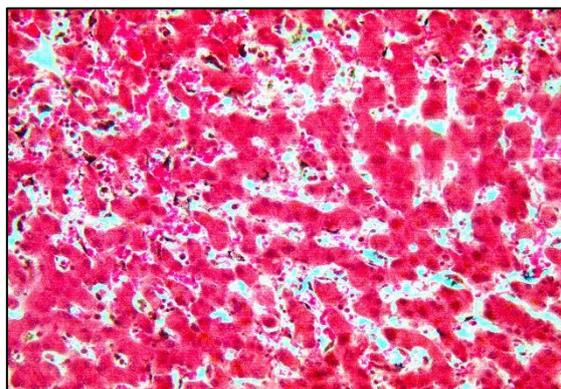


Рис. 3.8. Морфологическая картина печени больного Е. ОПечН на фоне тяжелого отравления уксусной кислотой. Полнокровие и резкое расширение капилляров. Эозинофилия гепатоцитов. Клетки Каунсильмена x200

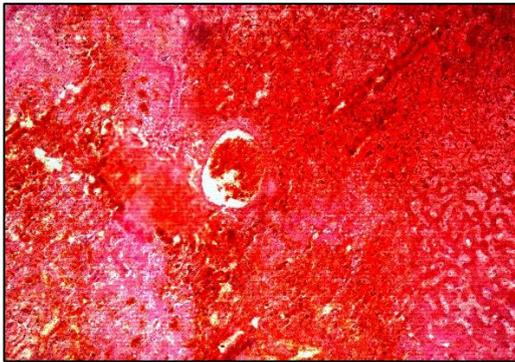


Рис. 3.9. Морфологическая картина печени больного Е. ОПечН на фоне тяжелого отравления уксусной кислотой. Полнокровие синусоидных капилляров с частичными гемолизом эритроцитов, отмечается очаги некрозов гепатоцитов. x100

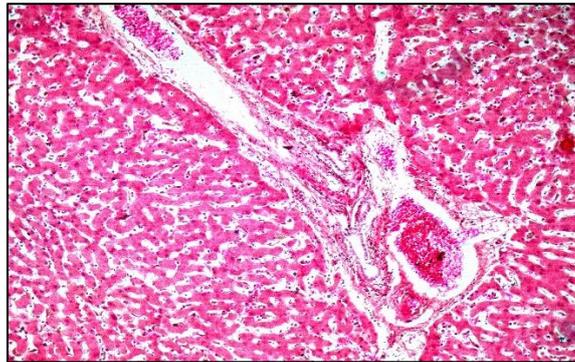


Рис. 3.10. Морфологическая картина печени больного Ж. ОПечН на фоне тяжелого отравления уксусной кислотой. Полнокровие центральных вен, центрально-лобулярные некрозы и очаги кровоизлияний, лимфоцитарная инфильтрация. x100

Морфологическая структура печени у пациентов 2-й группы, умерших в результате тяжелого отравления уксусной кислотой, имела некоторые отличия по сравнению с 1-й группой. Для таких больных была характерна выраженная отечность ткани печени, наличие очаговых кровоизлияний, изменение окраски органа, резкое расширение синусоидов, а также отдельных портальных сосудов и центральных вен с выраженным застоем форменных элементов крови (рис. 3.7, 3.8).

На фоне интенсивного полнокровия в системе воротной вены наблюдалось нарушение нормальной дольковой архитектоники. Балочная организация печеночных долек была дезорганизована, местами отмечалась фрагментация печеночных балок. В таких участках ядра гепатоцитов имели пикнотичный характер, а некоторые клетки были окружены светлым гало, что свидетельствовало о развитии некробиотических процессов в гепатоцитах.

Отмечались морфологические признаки так называемой «шоковой печени», включая капиллярный стаз, выраженную диффузную инфильтрацию лимфоцитами в пределах долек, расширение синусоидов и наличие гидropической дистрофии гепатоцитов. Также были обнаружены участки

разрушенных, лишённых ядер гепатоцитов, которые в некоторых зонах заменялись мелкоочаговыми лимфогистиоцитарными инфильтратами (рис. 3.8, 3.9, 3.10).

Морфологические изменения печени у пациентов 3-й группы, умерших от тяжелых ожогов, в целом напоминали изменения, выявленные у больных 2-й группы. В печеночной паренхиме регистрировалось неравномерное и очаговое полнокровие синусоидных капилляров. В расширенных перисинусоидальных пространствах местами присутствовала розовая зернистая сетчатая масса. В звездчатых ретикулоэндотелиоцитах выявлялись черные частицы сажи (рис. 3.11, 3.12)

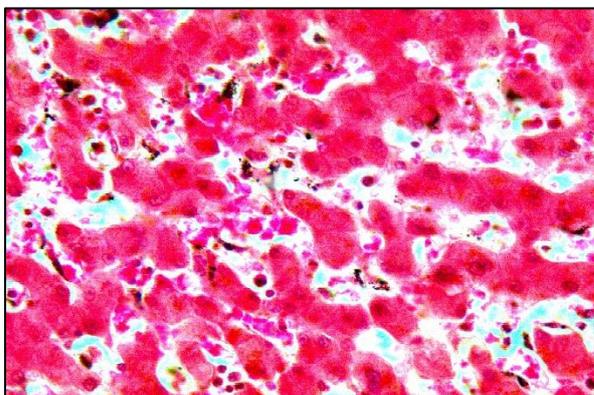


Рис. 3.11. Морфологическая картина печени больного З. ОПечН на фоне тяжелого термического ожога. Мелкокапельная жировая дистрофия, исчезновение гликогена лимфоцитарная инфильтрация. x200

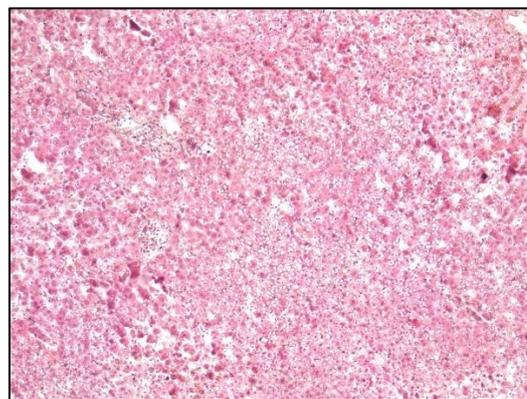


Рис. 3.12. Морфологическая картина печени больного И. ОПечН на фоне тяжелого термического ожога. Полнокровие центральных вен, и очаги кровоизлияний, лимфоцитарная инфильтрация, частицы копоти, Клетки Каунсильмена. x400

Наблюдалось неравномерное полнокровие центральных вен и вен портальных трактов, в просвете некоторых сосудов розовая гомогенная, сетчатая масса с примесью форменных элементов крови (эритроциты, лейкоциты) (рис. 3.11, 3.12). Балочно – радиарное строение долек сохранено. Гепатоциты резко набухшие, в состоянии белковой дистрофии, отмечается резкая эозинофилия гепатоцитов. Особенностью токсического поражения печени у тяжелообожженных являлось очаговое, мелкоочаговое исчезновение в них гликогена и крупнокапельная жировая дистрофия гепатоцитов.

Отдельные портальные тракты были незначительно расширены, в их строме очаговая умеренная лимфогистиоцитарная инфильтрация с единичными сегментоядерными лейкоцитами.

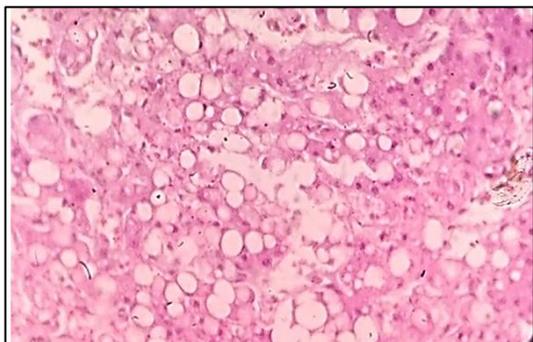


Рис. 3.13. Морфологическая картина печени больного Н. ОПечН на фоне тяжелого панкреонекроза. Мелкокапельная жировая дистрофия, х200

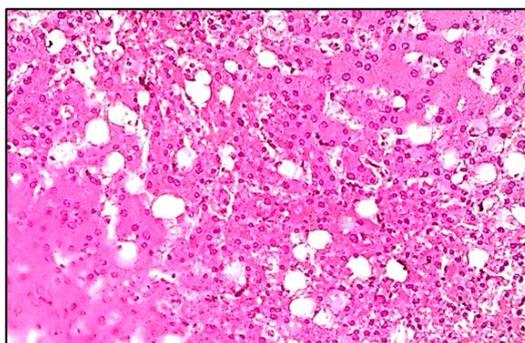


Рис. 3.14. Морфологическая картина печени больного М. ОПечН на фоне тяжелого панкреонекроза. Мелкокапельная жировая дистрофия, х200 Эозинофилия гепатоцитов. Клетки Каунсильмена х200

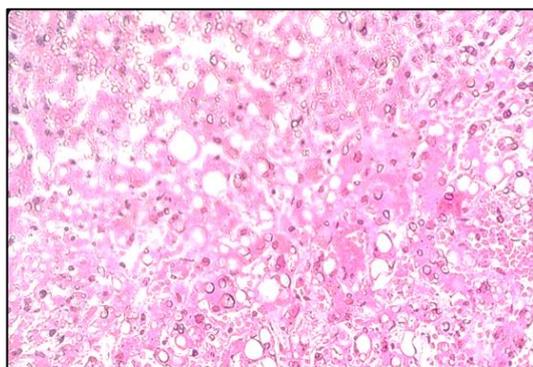


Рис. 3.15. Морфологическая картина печени больного О. ОПечН на фоне тяжелого панкреонекроза Полнокровие синусоидных капилляров, жировая дистрофия, лимфоцитарная инфильтрация. х100

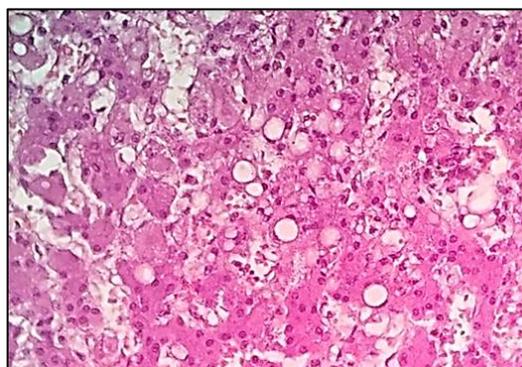


Рис. 3.16. Морфологическая картина печени больного П. ОПечН на фоне тяжелого панкреонекроза Полнокровие синусоидных капилляров, тсаз эритроцитов, гидропическая, лимфоцитарная инфильтрация. х100

Имелись участки, где группы портальных трактов резко расширены за счёт склероза, в их строме диффузная умеренная и выраженная лимфогистиоцитарная инфильтрация с единичными сегментоядерными

лейкоцитами, единичные мелкие круглоклеточные инфильтраты обнаружены в строме долек, склероз стенок артерии и триад (рис. 3.11, 3.12). У больных, умерших от панкреонекроза, при гистологическом исследовании печени выявлены разнообразные патологические изменения, отражающие тяжёлое системное поражение организма. Наиболее частыми находками являлись дистрофические изменения гепатоцитов, такие как гидропическая и жировая дистрофия (рис. 3.13-3.16). Гидропическая дистрофия проявлялась набуханием клеток с просветлением цитоплазмы (рис.3.16). Жировая дистрофия, как правило, локализуется в периферических участках печёночных долек и отражает метаболические расстройства. Также наблюдалась баллонная дистрофия гепатоцитов, особенно выраженная в центральной зоне ацинуса.

В ряде случаев выявлялся очаговый или диффузный некроз гепатоцитов, преимущественно централобулярный, что обусловлено гипоксией и нарушением перфузии, характерными для тяжёлого панкреонекроза и сопровождающего его синдрома системного воспалительного ответа. Нарушения архитектоники печёночных долек также были частой находкой — балочная структура наблюдалась разорванной, с фрагментацией гепатоцитарных тяжей. Эти изменения сопровождались расширением синусоидов, полнокровием, особенно в центральных венах и портальных сосудах, а также стазом форменных элементов крови. В паренхиме печени встречались мелкие кровоизлияния, свидетельствующие о нарушении сосудистой проницаемости.

Выраженные признаки системного воспаления проявлялись инфильтрацией портальных трактов и синусоидов нейтрофильными лейкоцитами и макрофагами, активацией клеток Купфера, что особенно характерно при наличии септических осложнений.

Таким образом, морфологическая картина печени при панкреонекрозе характеризуется сочетанием дистрофических, некротических и

воспалительных изменений, развивающихся на фоне тяжёлого системного воспаления, гипоксии и печеночной недостаточности недостаточности.

Нами проведен анализ основных морфологических изменений, которые были выявлены у пациентов умерших от острой печеночной недостаточности (таблица 3.7.)

Таблица 3.7. Основные морфологические изменения в ткани печени у умерших пациентов (% встречаемости) в зависимости от этиологии ОПечН, n=18

Основные морфологические характеристики	(% встречаемости)			
	1-я группа N=15	2-я группа N=5	3-я группа N=6	4-я группа N=6
Инфильтрация ткани лимфоцитами	100	100	100	100
Расширение портальных трактов	66	40	25	25
Ступенчатые и лобулярные некрозы	55	0	0	40
Гидропическая дистрофия	100	100	100	100
Порто-портальные септы	40	0	0	0
Сосудистое полнокровие	20	100	100	100
Тельца Каунсильмена	100	100	100	100
«Песочные ядра» гепатоцитов	20	0	0	0
Эозинофилия гепатоцитов	100	100	100	100
Жировая инфильтрация гепатоцитов	100	20	0	20
Жировая дистрофия гепатоцитов	0	33	100	100

Согласно полученным данным, несмотря на значимые различия в каждой группе умерших гистио-структуры ткани печени, нами выявлены определенные сходные морфологические изменения: у всех погибших

отмечалась лимфогистиоцитарная инфильтрация, гидропическая дистрофия гепатоцитов и наличие апоптотических гепатоцитов, так называемых телец Каунсильмена.

**Выводы.** Резюмируя наши исследования можно прийти к следующим выводам:

1. В ходе наблюдений за 730 пациентами с токсическим поражением печени в результате острых отравлений и эндотоксикозов за период 2021–2024 гг. было установлено, что у всех больных уровень свободного аммиака в крови значительно превышал физиологические значения, даже в тех случаях, когда остальные биохимические показатели функции печени оставались в пределах нормы или были лишь незначительно повышены. Это позволяет рассматривать повышение уровня свободного аммиака как один из ранних индикаторов токсического поражения печени и возможного начала формирования печеночной недостаточности.
2. В тех случаях, когда уровень аммиака достигал сверхкритических значений, особенно у пациентов с алкогольными отравлениями, ожогами и интоксикацией уксусной кислотой, возникает необходимость пересмотра схемы лечения. Таким больным требуется включение в интенсивную терапию препаратов, обладающих способностью связывать аммиак.
3. Молекулярно-генетическое исследование полиморфизмов rs1965 (ген GSTP1) и rs2070676 (ген CYP2E1), выполненное у 312 пациентов, выявило, что у носителей гомозиготного генотипа G/G по одному из указанных генов наблюдалось выраженное повышение уровня аммиака, а также таких печеночных ферментов, как АлТ, АсТ, ЛДГ и ЩФ. Эти значения превосходили как нормальные показатели, так и данные пациентов с гетерозиготным и гомозиготным (по аллелю А) типом. Кроме того, в этой группе была зафиксирована намного более высокая летальность. Самое тяжелое течение токсического гепатита отмечалось у больных с генотипом G/G по обоим генам — GSTP1 и CYP2E1.

4. Изучение параметров клеточного иммунитета у пациентов с острым токсическим поражением печени выявило умеренное его угнетение. Однако при тяжелых ожогах и панкреонекрозах иммунодефицит был выражен более отчетливо, что подтверждает иммуносупрессивное действие данных состояний. Это обосновывает необходимость включения иммуностимулирующих препаратов в состав комплексной терапии подобных больных.
5. Морфологическое исследование тканей печени у пациентов, скончавшихся от острой печеночной недостаточности на фоне отравлений и ожоговой болезни, панкреонекрозов выявило у всех умерших характерные изменения: лимфогистиоцитарную инфильтрацию, гидropическую дистрофию гепатоцитов и наличие апоптотически измененных клеток печени (тельца Каунсильмена).

## ГЛАВА IV. ПРИМЕНЕНИЕ АЛГОРИТМОВ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА В ОПРЕДЕЛЕНИИ ТЯЖЕСТИ ПОРАЖЕНИЙ ПЕЧЕНИ И ПРОГНОЗИРОВАНИИ РАЗВИТИЯ ОСТРОЙ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ПРИ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЯХ И ЭНДОТОКСИКОЗАХ

### 4.1. Разработка компьютерного онлайн алгоритма диагностики и интенсивной терапии токсических поражений печени при острых отравлениях и эндотоксикозах.

На основе обработки 730 историй болезни пациентов с токсическими поражениями печени на фоне острых отравлений, тяжелых ожогов и панкреонекрозов был создан банк данных, в который внесены результаты клинических, лабораторных, инструментальных исследований.

Результаты исследований уровня свободного аммиака как одного из наиболее информативных ранних признаков развития токсических гепатитов позволили нам использовать данный показатель как критерий рандомизации больных по степени тяжести, для чего мы использовали расчеты показателей, приведенные в программной статье коллектива авторов «Российский консенсус гипераммониемии у взрослых» от 2021 года [20].

Классификация гипераммониемии принятая консенсусом ведущих гепатологов выделяет: легкую степень – до 100 мкмоль/л; среднюю – до 200 мкмоль/л; тяжелую – более 200 мкмоль/л.

Согласно данной классификации мы провели стратификацию пациентов в соответствии с уровнем свободного аммиака (таблица 4.1).

Таблица 4.1. Распределение больных в зависимости от уровня свободного аммиака (n=730) (M±m)

Показатели	III группа n=178 (низкий уровень свободного аммиака)	II группа n=434 (средний уровень свободного аммиака)	I группа n=118 (высокий уровень свободного аммиака)

Свободный аммиак, мкмоль/л, 18-33	91,2±8,8*	162,3±27,5*	268,7±21,4*
-----------------------------------	-----------	-------------	-------------

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с группой пациентов имеющих низкие уровни показателей.

Нами был проведен расчет информативности клинико-лабораторных и инструментальных признаков с использованием рангового дисперсионного анализа по Краскелу – Уоллису на статистической программе OriginPro 8.6.

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \sum_{i=1}^m \frac{R_i^2}{n_i} - 3(N+1),$$

Где  $n_i$  - число наблюдений в группе  $i$ ,  $N = \sum_{i=1}^m n_i = \sum_{i=1}^m 1$  - общее число наблюдений во всех  $m$  группах, а  $R_i$  - сумма рангов наблюдений в группе  $i$ .

Автоматически определяли относительный риск летального исхода (ОР) как отношение количества умерших пациентов к количеству выживших, а также степень влияния каждого признака на исход заболевания, включая вероятность развития острой печеночной недостаточности и соотношение каждого показателя к базовому распределительному критерию, то есть свободному аммиаку.

При этом информативные в плане диагностики токсического поражения печени оказались следующие показатели:

А) клинические - уровень сознания по Глазго в баллах, показатели скрытой печеночной энцефалопатии: уровень нарушения интеллекта по шкале MMSE в баллах, уровень нарушения интеллекта по шкале FAB в баллах, тест Рейтана в сек, подкожные гематомы, геморрагии, вкус желчи во рту, рвота, частота дыхания, цвет кожных покровов, ЧСС, вегетативный индекс Кердо, цвет мочи и уровень диуреза в сутки

Б) лабораторные: фибриноген г/л, ПТИ %, ВСК в мин, лактат крови ммоль/л, свободный аммиак крови мкмоль/л, глюкоза крови ммоль/л,

билирубин ммоль/л, мочевина, ммоль/л, креатинин, ммоль/л, АлТ u/l, АсТ u/l, ЛДГ, u/l, ЩФ, u/l, общий белок г/л, уровень средних молекул ед.опт.пл.

В) инструментальные: показатели нарушения вегетативных функций: Мо (мода) сек, АМо (амплитуда моды) %, ΔХ (вариационный размах) сек, ИН (индекс напряжения) усл.ед., а также данные УЗИ печени.

Всего у исследуемых пациентов выявлено 32 информативных показателя, уровень которых распределили по степени тяжести. Данные распределения показателей приведены в таблице 3.9. При этом каждый показатель оценивался от 0 до 3 баллов. Пациенты с легкой степенью токсического гепатита набирали от 5 до 16 баллов, средней от 17 до 45 баллов, тяжелой - 45 и выше баллов (таблица 4.2).

Таблица 4.2. Показатели для распределения пациентов с токсическими гепатитами по степени тяжести.

Критерии и степени гепатита				
	Критерии	Легкая степень (n=178)	Средняя (n=434)	Тяжелая (n=118)
Клинические критерии				
	Баллы	1	2	3
1.	Уровень сознания по Глазго в баллах	$\geq 14 - 0$ баллов	$\geq 13 \div < 14 - 1$ балл	$< 13 - 2$ балла
2.	Уровень нарушения интеллекта по шкале MMSE в баллах	$\geq 25 - 1$ балл	$\geq 21 \div < 25 - 2$ балла	$< 21 - 3$ балла
3.	Уровень нарушения интеллекта по шкале FAB в баллах	$\geq 15 - 1$ балл	$\geq 12 \div < 15 - 2$ балла	$< 12 - 3$ балла
4. *	Тест Рейтана в сек	$\leq 120 - 1$ балл	$> 120 \div \leq 180 - 2$ балла	$> 180$ или не выполняется – 3 балла
5. *	Подкожные гематомы, геморрагии	Нет - 0	Нет - 0	Имеются - 1
6. *	Вкус желчи во рту	Нет - 0	Нет - 0	Имеется - 1
7. *	Рвота	$1 \leq 5 - 1$ балл	$> 5 \div \leq 10$ раз в сутки, желчью – 2 балла	$> 10$ раз в сутки, желчью, кофейной гущей – 3 балла
8. *	Частота дыхания	$\geq 16 \div \leq 24 - 0$ баллов	$> 24 \div \leq 32 - 1$ балл	$> 32$ или $< 16 - 2$ балла
9. *	Цвет кожных покровов	Бледно-розовый – 0 баллов	Бледный – 1 балл	Желтушный – 2 балла

10.*	ЧСС	$\leq 100$ – 0 баллов	$> 100 \div \leq 120$ – 1 балл	$> 120$ – 2 балла
11.*	Индекс Кердо = $(1 - D/P)$ , где D- диастолическое АД, P – частота пульса в мин	$0 \div \leq 0,1$ – 0 баллов	$> 0,1 \div \leq 0,20$ – 1 балл	$> 0,20$ – 2 балла
12.	Цвет мочи	обычный– 0 баллов	обычный– 0 баллов	Темно желтый или темно-коричневый – 1 балл
13.	Диурез/сут	$\geq 1200$ – 0 баллов	$\geq 800 \div < 1200$ мл – 1 балл	$< 800$ мл – 2 балла
Лабораторные критерии				
14.*	Фибриноген г/л	$\geq 4$ – 0 баллов	$\geq 2 \div < 4$ – 1 балла	$< 2,0$ г/л – 2 балла
15.*	ПТИ %	$\geq 90 \div \leq 110$ – 0 баллов	$\geq 75 \div < 90$ – 1 балла	$< 75$ – 2 балла
16.*	ВСК мин	$\geq 3 \div \leq 5$ мин – 0 баллов	$> 5 \div \leq 7$ мин – 1 балл	$> 7$ мин или не определяется - 2 балла
17.*	Лактат крови ммоль/л	$\geq 0,7 \div \leq 1,6$ – 0 баллов	$> 1,6 \div \leq 2,5$ – 1 балл	$> 2,5$ – 2 балла
18.*	Свободный аммиак крови мкмоль/л	$\leq 100$ – 1 балл	$> 100 \div \leq 200$ – 2 балла	$> 200$ – 3 балла
19.*	Глюкоза крови ммоль/л	$\geq 3,0$ – 1 балл	$\geq 2 \div < 3,0$ – 2 балла	$< 2,0$ – 3 балла
20.*	Мочевина, ммоль/л	$\geq 3,5 \div \leq 8,3$ – 0 баллов	$> 8,3 \div \leq 15,0$ – 1 балл	$> 15,0$ - 2 балла
21.*	Креатинин, ммоль/л	$\geq 0,07 \div \leq 0,2$ – 1 балл	$> 0,2 \div \leq 0,4$ – 2 балла	$> 0,4$ – 3 балла
22.*	АлТ у/л	$\geq 10 \div \leq 60$ – 1 балл	$> 60 \div \leq 200$ – 2 балла	$> 200$ – 3 балла
23.*	АсТ у/л	$\geq 10 \div \leq 55$ 1 балл	$> 55 \div \leq 180$ – 2 балла	$> 180$ – 3 балла
24.	ЛДГ, у/л,	$\leq 620$ – 1 балл	$\geq 620 \div \leq 900$ – 2 балла	$> 900$ – 3 балла
25.*	ЩФ, у/л,	$\leq 125$ – 1 балл	$> 125 \div \leq 200$ – 2 балла	$> 200$ -3 балла
26.*	Общий белок г/л	$\geq 65 \div \leq 80$ -0 баллов	$\geq 50 \div < 65$ – 1 балл	$< 50$ – 3 балла
27.	СМ ед. опт. пл.	$\leq 0,23$ – 1 балл	$> 0,23 \div \leq 0,6$ – 2 балла	$> 0,6$ – 3 балла
Инструментальные критерии				

28.	Мо (мода) сек	$\geq 0,9 \div \leq 0,8$ – 1 балл	$<0,8 \div \geq 0,6$ – 2 балла	$<0,6$ – 3 балла
29.	АМо (амплитуда моды) %	$\geq 15 \div \leq 18$ – 1 балл	$<15 \div \geq 12$ – 2 балла	$<12$ – 3 балла
30.	$\Delta X$ (вариационный размах) сек	$\geq 0,5$ – 1 балл	$<0,5 \div \geq 0,3$ – 2 балла	$<0,3$ – 3 балла
31.	ИН (индекс напряжения) усл.ед.	$\geq 60 \div \leq 90$ – 1 балл	$>90 \div \leq 160$ – 2 балла	$>160$ – 3 балла
32.	УЗИ почек	Без патологии – 0 баллов	Повышение эхогенности паренхимы почек и печени – 1 балл	Отек и бледность паренхимы почек, диффузное уплотнение паренхимы печени, гепатоспленомегалия – 2 балла

\* Показатели имеющие высокую прогностическую значимость.

Нами проведен анализ риска развития ОПечН и летальности и согласно разработанной бальной шкале (таблица 4.3)

Таблица 4.3. Риск развития риска развития ОПечН и летальности у больных с токсическими гепатитами (n=730)

Степень тяжести токсического гепатита	Общее количество больных (n=730)	Число больных с ОПечН (n=111) (% общего количества больных с ОПечН)	Количество умерших больных (n=78) (% общего количества умерших в группе риска)
Тяжелая (свыше 45 баллов)	132	99 (89,8%)	76 (97,5%)
Средняя (17-45 баллов)	429	12(10,2%)	2(2,5%)
Легкая (< 17 баллов)	169	0 (0%)	0 (0%)

Согласно полученным данным наиболее высокая вероятность развития ОПечН и смерти больного выявлена у пациентов набравших свыше 45 баллов – 93,65% (89,8%+97,5%/2), то есть с тяжелой степенью токсического поражения печени, что свидетельствует высокой чувствительности разработанной шкалы.

Созданный банк данных и шкала оценки тяжести токсического гепатита послужили основой для разработки компьютерной программы «Алгоритм диагностики и лечения токсических поражений печени» (DGU 20234151 от 5.05.2023).

Программа позволяет при заполнении ряда клинических, лабораторных параметров конкретного пациента автоматически предложить предварительный распределение пациентов по степени тяжести что позволит

выработать соответствующую тактику лечебных мероприятий, а также создается архивный банк данных по данной категории больных (рисунки 4.1, 4.2, 4.3, 4.4).

№	Описание	Значение	Результат
<b>Клинические критерии</b>			
1	Уровень сознания по Глазго в баллах :	<input type="text" value="15"/>	
2	Уровень нарушения интеллекта по шкале MMSE в баллах :	<input type="text" value="24"/>	
3	Уровень нарушения интеллекта по шкале FAB в баллах :	<input type="text" value="13"/>	
4	Тест Рейтана в сек :	<input type="text" value="118"/>	
5	Подкожные гематомы, геморрагии :	<input type="text" value="нет"/>	
6	Вкус желчи во рту :	<input type="text" value="нет"/>	
7	Рвота :	<input type="text" value="3"/>	
8	Частота дыхания :	<input type="text" value="22"/>	
9	Цвет кожных покровов :	<input type="text" value="Бледный"/>	
10	ЧСС :	<input type="text" value="118"/>	
11	Индекс Кердо = $(1 - D/P)$ , где D- диастолическое АД, P – частота пульса в мин :	<input type="text" value="0,6"/>	

Рис. 4.1 Образец применения компьютерной программы «Алгоритм диагностики и лечения токсических поражений печени». Заполнение клинических критериев.

Лабораторные критерии			
14	Фибриноген г/л :	1,6	
15	ПТИ % :	77	
16	ВСК мин :	3	
17	Лактат крови ммоль/л :	2,9	
18	Свободный аммиак крови мкмоль/л :	142	
19	Глюкоза крови ммоль/л :	3,7	
20	Мочевина, ммоль/л :	7	
21	Креатинин, ммоль/л :	0,03	
22	АлТ у/л :	167	
23	АсТ у/л :	138	
24	ЛДГ, у/л :	765	
25	ЩФ, у/л :	134	

Рис. 4.2. Образец применения компьютерной программы «Алгоритм диагностики и лечения токсических поражений печени». Заполнение лабораторных критериев.

Инструментальные критерии			
28	Мо (мода) сек :	0,7	Средняя
29	АМо (амплитуда моды) % :	15	Легкая
30	ΔX (вариационный размах) сек :	0,4	Средняя
31	ИН (индекс напряжения) усл.ед. :	267	Тяжелая
32	УЗИ почек :	Повышение экзогенности паренхимы почек и печени	Средняя
<b>Итого :</b>			Средняя (37 балл)

Рис. 4.3. Образец применения компьютерной программы «Алгоритм диагностики и лечения токсических поражений печени». Заполнение инструментальных критериев и расчет тяжести отравления.

<b><i>Лечение токсического гепатита средней степени тяжести</i></b>
<p>Госпитализация на 5-7 дней инфузионная терапия объеме 1800 - 2400 мл / сутки: реосорбилакт – 400,0 мл, кристаллоидные растворы – 800 - 2400 мл, поляризующая смесь. витаминотерапия(В1, В6, С). Гепатопротекция: ремаксол по 400,0 мл в/ в капельно 1 раз в день 5 дней, L - орнитина - L - аспартат(гепа мерц по 10, 0 мл в / в капельно) 1 раз в сутки 5 дней, затем адеметионин по 400,0 мг в табл 2 раза в сутки в течение 5 дней и препараты расторопши по 1 табл 3 раза в день 14 дней. Диетическое питание Диета № 5а. 80 г белков, 60 % из которых животные; 70 - 75 г жиров, 20 - 25 % из которых растительные; 350 г углеводов, 80 - 90 г которых – сахар; Энергоценность лечебной диеты № 5А равняется 2400 калориям. Содержание жира соответствует физиологической норме, причем 2 / 3 должны составлять жиры животного происхождения, а 1 / 3 — растительного. Растительные масла обеспечивают желчегонный эффект, липолитическое действие, улучшают обмен холестерина. В периоде ремиссии больному разрешаются следующие блюда: вегетарианские, молочные, фруктовые супы, вегетарианские щи; нежирные сорта мяса(кролик, говядина, курица) и рыбы в отварном, запеченном виде; творог(некислый) и изделия из творога(сырники, ленивые вареники, пудинги, запеканки); молоко во всех видах(при хорошей переносимости); яйца(1 - 2) 2 - 3 раза в неделю при хорошей переносимости или омлеты; кефир, простокваша; масло сливочное и растительное; сметана как приправа к блюдам; очень осторожно неострые, некопченые закуски: сыр, вымоченная сельдь, нежирная ветчина, докторская колбаса; соусы неострые; овощи в виде салатов и гарниров(картофель, морковь, капуста, помидоры); фрукты можно давать в натуральном виде, а также в виде киселей, компотов, желе; овощные и фруктовые соки; хлеб белый и черный вчерашний; сухое несдобное печенье; сахар, мед, варенье; чай некрепкий, чай с молоком. Из рациона исключаются жирные сорта мяса и рыбы; жареные блюда; острые закуски; соленые и копченые продукты; изделия из мяса гуся, утки, баранины, жирной свинины; мясо внутренних органов, сало; мозги; бараний жир; бобовые, шпинат, щавель; кислые фрукты; крепкий кофе, какао. Пища принимается небольшими порциями 4 - 5 раз в день.</p>

Рис. 4.4. Образец применения компьютерной программы «Алгоритм диагностики и лечения токсических поражений печени». Выдача предварительного плана лечебных мероприятий.

Таким образом, разработанная нами лечебно-диагностическая программа, позволит улучшить диагностику и тактику интенсивной терапии пациентов с токсическими поражениями печени на раннем этапе и снизить риск развития острой печеночной недостаточности.

#### **4.2. Разработка онлайн калькулятора прогнозирования острой печеночной недостаточности.**

На основе обработки 730 историй болезни пациентов с токсическими поражениями печени на фоне острых отравлений, тяжелых ожогов и панкреонекрозов был обновлен банк данных, в который были внесены результаты клинических, лабораторных, инструментальных исследований.

В изучении больных с токсическими гепатитами, в том числе и осложнённых острой печеночной недостаточностью, включали данные клинического обследования больных (цвет кожных покровов, наличие геморрагических высыпаний, увеличение размеров печени, цвет мочи), биохимические показатели венозной крови (АлТ, АсТ и коэффициент де Ритиса, глюкоза крови, билирубин общая и прямая фракции, ЛДГ, ЩФ, уровень лактата крови, свободного аммиака). Гемостазиологический потенциал крови оценивали по протромбиновому времени (МНО), концентрацию фибриногена (г/л), ВСК (сек), исследование проводили на коагулометре HumaClot Junior (2014) и Coax BioSystems (Испания, 2019). Также изучали психометрические тесты на печеночную энцефалопатию.

Нами был проведен расчет информативности клинико-лабораторных и инструментальных признаков с использованием дивергенции Кульбака–Лейблера для дискретных распределений на статистической программе OriginPro 8.6.:

$$DKL(P \parallel Q) = \sum P(i) \log(Q(i)/P(i))$$

где

- $P, Q$  — плотности вероятности для непрерывного случая.
- $P(i)$  — вероятность признака у больных с острой печеночной недостаточностью (ОПечН),

- $Q(i)Q$  — вероятность того же признака у пациентов без ОПечН,
- $\log$  — логарифм

Единица измерения — биты.

Критерием высокой информативности признака для прогноза развития ОПечН являлся его уровень в битах более 1,5.

Автоматически определяли относительный риск летального исхода как отношение количества умерших пациентов к количеству выживших, а также степень влияния каждого признака на вероятность развития острой печеночной недостаточности. Важнейшим критерием риска развития острой печеночной недостаточности являлась динамика ухудшения показателя на 3-е сутки по сравнению с данными этого же показателя при поступлении.

Из 730 исследованных нами пациентов у 111 (15,2%) развилась острая печеночная недостаточность, из них 78 умерли, таким образом общая летальность среди пациентов с токсическими гепатитами составила 10,6%, но среди больных с уже развившейся ОПечН - 70,2%, что соответствует данным зарубежных исследователей и подтверждает актуальность нашего исследования. Распределение пациентов по нозологиям представлено в таблице 4.4.

Таблица 4.4. Распределение пациентов с токсическими гепатитами по незоологическим группам (n=730)

Нозологические группы	Количество пациентов абс (%)	Из них количество пациентов с развившейся ОПечН абс (%) от количества больных в группе)	Количество умерших пациентов абс (%) от количества больных в группе)
Острые отравления	545 (74,7)	60 (11)	38 (5,9)

Тяжелообожженные	114 (15,6)	35 (30,7)	28 (24,5)
Панкреонекрозы	71 (9,7)	17 (23,9)	12 (16,9)
<b>Всего</b>	<b>730 (100)</b>	<b>111 (15,2)</b>	<b>78 (10,6)</b>

Как видно из таблицы чаще всего в % отношении острая печеночная недостаточность с высокой летальностью развивалась у пациентов с тяжелыми ожогами.

Изучение информативности клинических, лабораторных и инструментальных показателей у пациентов с токсическими поражениями печени в плане раннего прогноза развития острой печеночной недостаточности выявило интересные результаты (рис 4.5).

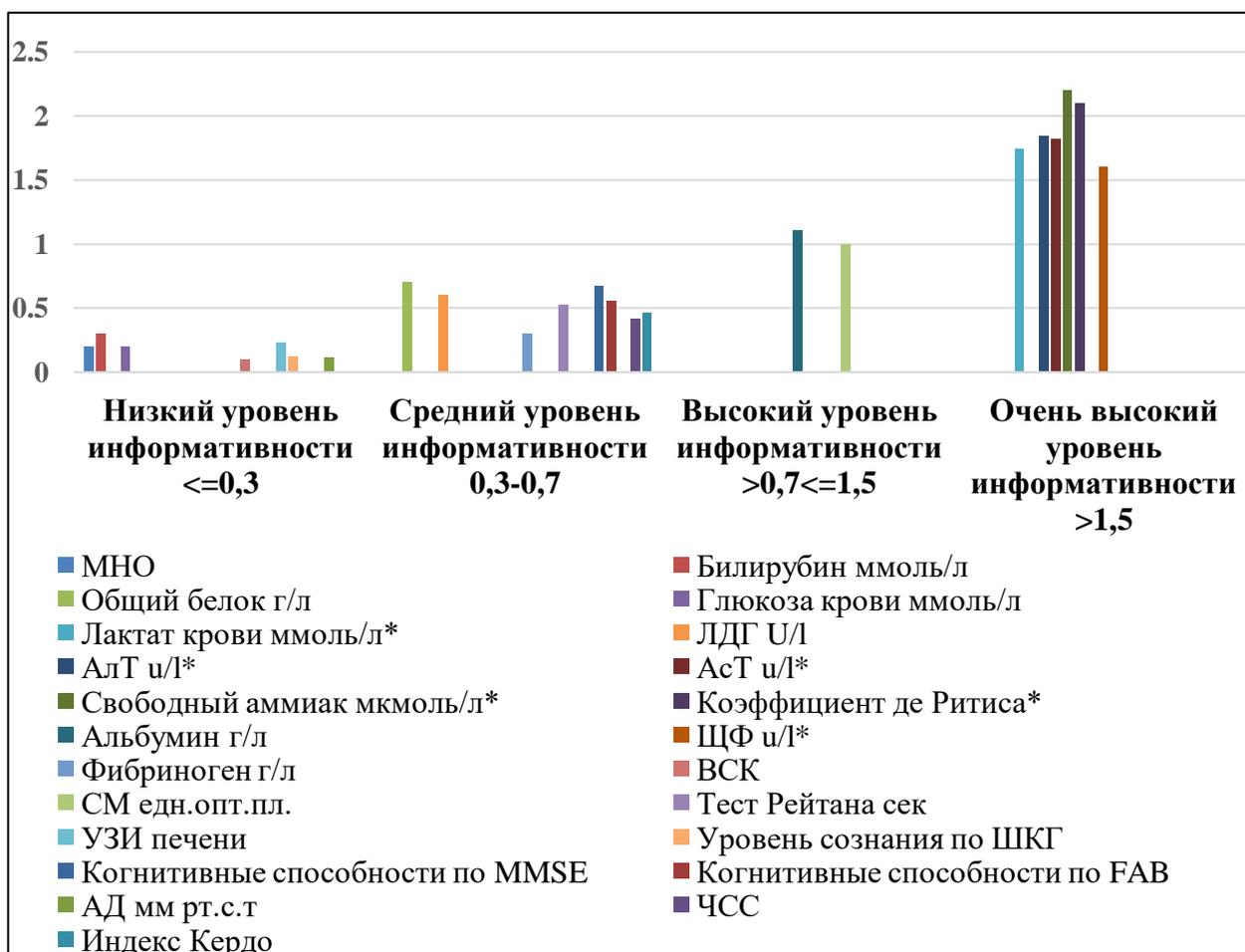


Рис 4.5. Распределение клинических, лабораторных и инструментальных показателей по уровню информативности для прогноза развития ОПечН на раннем этапе по формуле Кульбака-Лейблера (3 сутки). \*Критерии очень высокой информативности.

Наиболее информативными прогностическими критериями на 3-е сутки оказались следующие лабораторные показатели: 1. свободный аммиак крови, мкмоль/л – 2,74 бита. 2. лактат крови, ммоль/л – 1,79 бита. 3. ЩФ крови, u/l – 1,8 бита. 4. Коэффициент де Ритиса, то есть соотношение АсТ/АлТ, (норма - 0,91-1,75) – 2,1 бита (рис 4.5).

Что касается других показателей, которые традиционно считаются признаками развития ОПечН – МНО, ПТИ, альбумин, билирубин, тест Рейтана то данные показатели на 3-е сутки были в пределах нормы, или ниже критических значений, не имели отрицательную динамику по сравнению с показателями при поступлении, что позволяет их исключить в качестве именно ранних критериев субклинической стадии ОПечН (рис 4.5).

Таким образом всего у исследуемых пациентов выявлено 4 ранних высокоинформативных показателя, которых мы распределили по степени риска развития ОПечН. Данные распределения показателей приведены в таблице 4.5. При этом по каждому показателю рассчитывался отдельный динамический отрицательный коэффициент, которые потом суммировались. Пациенты с низким риском развития набирали до 3,7 баллов включительно, средним свыше 3,8 до 5,3 баллов, высоким риском – выше 5,3 балла (таблица 4.6)

Таблица 4.5. Распределение больных в зависимости от риска развития острой печеночной недостаточности на раннем этапе (n=730)

Показатель	Низкий риск n=399	Умеренный риск n=228	Высокий риск n=103
Уровень свободного аммиака на 3-е сутки/уровень свободного аммиака при поступлении	$\leq 1,1$	$>1,1 \div \leq 1,4$	$>1,4$
уровень ЩФ на 3-е сутки/ уровень ЩФ при поступлении	$\leq 1,5$	$>1,5 \div \leq 2,0$	$>2$

уровень лактата на 3-е сутки/ уровень лактата при поступлении	$\leq 1,0$	$>1,0 \div \leq 1,5$	$>1,5$
Коэффициент де Ритиса (соотношение АСТ/АЛТ, норма 0,91-1,75) на 3-е сутки/ коэффициент де Ритиса при поступлении	$\leq 0,1$	$>0,1 \div \leq 0,4$	$>0,4$
Итого	$\leq 3,7$	$>3,7 \div \leq 5,3$	$>5,3$

Нами проведен анализ риска развития ОПечН и летальности и согласно разработанной бальной шкале (таблица 4.6)

Таблица 4.6 Риск развития риска развития ОПечН и летальности у больных с токсическими гепатитами (n=730)

Риск развития ОПечН	Общее количество больных (n=730)	Число больных с ОПечН (n=111) абс(% общего количества больных с ОПечН)	Количество умерших больных (n=49) абс(% общего количества умерших в группе риска)
Низкий риск ( $\leq 3,7$ )	399	0 (0%)	0 (0%)
Средний риск ( $>3,7 \div \leq 5,3$ )	228	17 (7,1%)	8 (47%)
Высокий риск ( $>5,3$ )	103	94 (91,2%)	70 (74,4%)

Согласно полученным данным наиболее высокая вероятность развития ОПечН и смерти больного выявлена у пациентов, набравших свыше 5,3 баллов – 95,6% ( $92,0\%+100\%/2$ ), то есть с высокой степенью риска, что

свидетельствует высокой чувствительности разработанной шкалы (таблица 4.6).

Созданный банк данных и шкала оценки риска развития ОПечН послужили основой для разработки компьютерной программы «Онлайн калькулятор прогнозирования острой печеночной недостаточности на раннем этапе» (DGU 25870 от 24.06.2023).

Ф.И.О.: Хамидов Анвар Баходирович      Номер И.Б.: 9779  
 Дата: 18.02.2023

№	Описание	Значение	Результат
1	Уровень свободного аммиака на 3-е сутки - $x_{11}$ :	278	
2	Уровень свободного аммиака при поступлении - $x_{12}$ :	134	
3	Уровень ЩФ на 3-е сутки - $x_{21}$ :	235	
4	Уровень ЩФ при поступлении - $x_{22}$ :	98	
5	Уровень лактата на 3-е сутки - $x_{31}$ :	3,8	
6	Уровень лактата при поступлении - $x_{32}$ :	2,1	
7	Коэффициент де Ритиса (соотношение АСТ/АЛТ, норма 0,91-1,75) на 3-е сутки - $x_{41}$ :	0,92	
8	Коэффициент де Ритиса при поступлении - $x_{42}$ :	0,55	
Итого :			

Печать      Очистить      Вычислить

Рис. 4.6. Образец применения компьютерной программы «Онлайн калькулятор прогнозирования острой печеночной недостаточности на раннем этапе». Заполнение клинических критериев.

Дата: 18.02.2023

№	Описание	Значение	Результат
1	Уровень свободного аммиака на 3-е сутки - $x_{11}$ :	278	$x_{11} / x_{12} = 2,07$ Низкий риск
2	Уровень свободного аммиака при поступлении - $x_{12}$ :	134	
3	Уровень ЩФ на 3-е сутки - $x_{21}$ :	235	$x_{21} / x_{22} = 2,40$ Низкий риск
4	Уровень ЩФ при поступлении - $x_{22}$ :	98	
5	Уровень лактата на 3-е сутки - $x_{31}$ :	3,8	$x_{31} / x_{32} = 1,81$ Низкий риск
6	Уровень лактата при поступлении - $x_{32}$ :	2,1	
7	Коэффициент де Ритиса (соотношение АСТ/АЛТ, норма 0,91-1,75) на 3-е сутки - $x_{41}$ :	0,92	$x_{41} / x_{42} = 1,67$ Низкий риск
8	Коэффициент де Ритиса при поступлении - $x_{42}$ :	0,55	
Итого :			Низкий риск

Рис. 4.7. Образец применения компьютерной программы «Онлайн калькулятор прогнозирования острой печеночной недостаточности на раннем этапе». Расчет риска развития ОПечН.

Программа позволяет при заполнении вышеуказанных лабораторных параметров конкретного пациента при поступлении и на 3-е сутки

автоматически рассчитать степень риска ОПечН что дает возможность выработать соответствующую тактику профилактических лечебных мероприятий, а также создается архивный банк данных п данной категории больных (рисунки 4.6, 4.7).

Приведем пример результатов применения разработанных нами программ:

Больной С, 52 года. Поступил в приёмное отделение токсикологии РНЦЭМП 11.08.2023. Из анамнеза – в течение 15 дней злоупотреблял алкоголем (водка), в среднем по 300 мл/сутки. Последнее употребление за сутки до поступления - 150 мл, на фоне чего отмечалась частая рвота более 12 раз в сутки, появилась одышка в покое, психомоторное возбуждение. В связи с этим пациента по линии скорой медицинской помощи доставили в РНЦЭМП.

Жалобы при поступлении на тошноту, частую рвоту желчью, одышку в покое, тремор рук и ног, сердцебиение, общую слабость, головокружение, шаткость походки.

При поступлении общее состояние больного тяжелое, кожные покровы чистые, сухие на ощупь, тургор кожи снижен. Сознание по шкале Глазго – 15 баллов, больной адекватный, но беспокойный, мечется по кушетке, агрессивный. Дыхание самостоятельное, учащенное, ЧД 30 в минуту, аускультативно везикулярное дыхание, хрипов нет. Пульс 130 ударов в 1 минуту, ритмичный, напряженный, удовлетворительного наполнения. Артериальное давление 170/90 мм.рт.ст. Живот мягкий, умеренно болезненный в эпигастрии при пальпации. Отмечается увеличение размеров печени – на 4 см выступает из под реберной дуги. Стула нет в течение двух суток, также отмечает умеренное снижение диуреза, моча концентрированная, темно желтая.

Больной обследован, при этом выявлены следующие клинико-биохимические и инструментальные данные:

*Алкоголь крови – 1,2 г/л.*

*Общий анализ крови* - гемоглобин-166 г/л, эритроциты- $5,9 \cdot 10^{12}$ , ц/п-0,9, лейкоциты- $7,9 \cdot 10^9$  без сдвига влево, СОЭ-4 мм/час, гематокрит-56%.

*Общий анализ мочи*: количество-100 мл, плотность-1020, цвет-темно-желтый, прозрачная, белок - 0, реакция-щелочная, эритроциты 1-2-3 в поле зрения, лейкоциты 1-2-3 в поле зрения.

*Биохимические анализы крови* - глюкоза-4,0 ммоль/л, общий белок- 57,0 г/л, мочевины-17,7 ммоль/л, креатинин-0,30 ммоль/л, билирубин-410 ммоль/л, прямой -29,5 ммоль/л, диастаза-98 ед/л, АСТ-290 у/л, АЛТ-272 у/л, коэффициент де Ритиса 1,06, ЩФ - 178 ммоль/л, альбумин-34,0 г/л.

Свободный аммиак крови-237 мкмоль/л, лактат крови-5,9 ммоль/л.

На ЭКГ – синусовая тахикардия.

На УЗИ: признаки диффузного уплотнения паренхимы печени, хронического панкреатита.

Больному также при поступлении проведено изучение показателей ВНС: вегетативный индекс Кердо при поступлении (1-D/P) – (1-90/130) = 0,31(высокий). Мода (Мо сек) - 0,46, амплитуда моды (АМо) 59%, ΔХ – 0,07 сек, индекс напряжения (ИН) 1400 ЕД.

Показатели когнитивных функций по шкалам MMSE, FAB и тесту соединения чисел Рейтана изучить не удалось из-за возбуждения пациента.

Данные пациента были введены в программу, по расчетам он получил 51 баллов что соответствовало тяжелой степени токсического гепатита.

На 3-е сутки биохимические анализы крови - АСТ-302 у/л, АЛТ-281 у/л, ЩФ – 217 ммоль/л, свободный аммиак 218 мкмоль/л, лактат 4,8 ммоль/л.

Согласно проведенному расчету прогноза развития ОПечН больной получил 3,9 балла, что свидетельствует о умеренном риске.

Больной получил стандартную интенсивную терапию, которая включала в себя седативные препараты из группы бензодиазепинов (сибазон), нейролептиков (дроперидол), инфузионную терапию кристаллоидными растворами в объеме 2200-1800-1600 мл/сутки, витаминотерапию с применением витаминов группы В, С.

Помимо стандартной терапии больной дополнительно внутривенное введение аммиаксвязывающего гепатопротектора джетепар по 20,0 мл в/в капельно разведенного на 400,0 мл физиологического раствора, через час после инфузии сукцинасола, также 2 раза в сутки в течение 5 суток.

В динамике состояние больного со значительным улучшением, купировано психомоторное возбуждение, беспокойство. Рвота и одышка прекратились. Гемодинамические показатели стабилизировались – АД снизилось до 120/70 мм.рт.ст., ЧСС до 78 в минуту на пятые сутки с момента госпитализации.

Со стороны клинико-биохимических анализов на 5-е сутки также наблюдалась положительная динамика: концентрация гемоглобина уменьшилась до 136 г/л, гематокрита до 38%. Показатели мочевины снизились до 9,4 ммоль/л, креатинина до 0,06 ммоль/л, билирубина до 22,5 ммоль/л, диастазы до 28,3 ед/л. При изучении показателей ферментов печени – АлТ снизилась до 98, АсТ до 103,2 у/л, уровень свободного аммиака до 136,1 мкмоль/л и лактата до 1,8 ммоль/л, что фактически свидетельствовало о нормализации данных маркеров гепатита и гипоксии.

Показатели ВНС также демонстрировали положительную динамику: Индекс Кердо снизился до 0,1 (1-70/78), Мода (Мо сек) повысилась до 0,89, амплитуда моды (АМо) уменьшилась до 26% , ΔХ повысился до – 0,14 сек, индекс напряжения (ИН) снизился до 292 ЕД. Таким образом, гиперсимпатикотония сменилась нормосимпатикотонией. Когнитивные функции по шкале MMSE составили 27 баллов, по шкале FAB 17 баллов и тест соединения чисел Рейтана больной выполнил за 94 секунды, что свидетельствовало о полном восстановлении интеллектуальной сферы.

Больной на 6-е сутки был выписан в удовлетворительном состоянии.

**Выводы.** Резюмируя наше исследование можно прийти к следующим выводам:

1.. Разработанная нами лечебно-диагностическая программа, позволит улучшить диагностику и тактику интенсивной терапии пациентов с

токсическими поражениями печени на раннем этапе и снизить риск развития острой печеночной недостаточности.

2. Выявлены следующие ранние развития острой печёночной недостаточности: свободный аммиак крови, лактат крови, щелочная фосфотаза и коэффициент де Ритиса, что соответствует патогенетическим механизмам развития данного синдрома. Выявление ранних прогностических критериев развития ОПечН позволило автоматизировать процесс диагностики еще до начала манифестации путем разработки прогностической шкалы и на ее основе онлайн калькулятора. Созданная нами программа прогнозирования острой печеночной недостаточности, позволит разработать меры профилактики на раннем этапе.

## **ГЛАВА V. РАЗРАБОТКА НОВОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ КЛАССИФИКАЦИИ ОСТРОЙ ПЕЧЁНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ПО СТАДИЯМ.**

### **5.1. Обоснование новой классификации острой печёночной недостаточности: анализ исторических подходов и современных диагностических критериев**

Как уже было упомянуто в литературном обзоре, исторически попытки классифицировать ОПечН предпринимались с момента выделения этого состояния в самостоятельную нозологическую единицу. Первые определения, предложенные Trey и Davidson в 1970 году, рассматривали ОПечН исключительно через призму сроков появления энцефалопатии: молниеносная форма (*fulminant hepatic failure*) — развитие в первые 7 дней, субмолниеносная — в течение восьми недель [8, 10, 27]. Этот подход сыграл важную роль в структуризации клинического мышления, но оказался недостаточным, поскольку не учитывал ни степень поражения печени, ни метаболические нарушения, ни разнообразие этиологических факторов. В последующие десятилетия предпринимались многочисленные попытки создать прогностические модели и функциональные шкалы, включая критерии Лондонского королевского колледжа, шкалы Клише–Вилледжуифа, модель MELD и её модификации, а также оценочные инструменты APACHE II и SOFA [10, 27, 123]. Несмотря на безусловную ценность, большинство из них ориентировано на тяжёлые, развернутые стадии заболевания и малоэффективно в диагностике ранних, субклинических форм.

Противоречия между реальной клинической картиной и существующими классификациями проявляются особенно ярко в практике экстренной медицины. Во многих случаях пациенты поступают с минимальными изменениями биохимических показателей, не укладывающихся в критерии классических шкал, тогда как уровень аммиака значительно превышает норму, сопровождается лёгкими когнитивными нарушениями или вегетативной лабильностью, что однозначно

свидетельствует о начале декомпенсации детоксикационной функции печени. Именно такие состояния не находят отражения в традиционных классификациях, что ограничивает возможности раннего вмешательства и увеличивает риск прогрессии до печёночной комы [10, 13].

Значительная часть существующих классификаций уделяет внимание либо исключительно клиническим проявлениям, либо преимущественно лабораторным параметрам, не объединяя их в единый патогенетический контур. Например, классификация печёночной энцефалопатии West Haven позволяет достоверно оценить выраженность неврологических нарушений, однако не даёт представления о глубине синтетической и детоксикационной дисфункции [8, 10, 122, 123]. С другой стороны, модель MELD основана на суррогатных показателях — билирубине, креатинине и МНО — но не учитывает уровень аммиака и лактата, напрямую отражающих нарушение клеточной энергетики и детоксикационной способности гепатоцитов. Критерии Королевского колледжа эффективны в определении показаний к трансплантации печени, но неприменимы к ранней диагностике [71, 122, 123].

В странах Азии и Европы предпринимались попытки включить в классификацию специфические биомаркеры, такие как уровень фактора V, активность глутаматдегидрогеназы, остеопонтинина, кератина-18 и повреждающих DAMP-молекул [8, 43, 123]. Однако эти методы остаются труднодоступными и не могут быть внедрены в широкую клиническую практику, особенно в условиях экстренной медицины. Шкалы, разработанные для пациентов с циррозом (Child–Pugh, CLIF-C ACLF), также плохо подходят для оценки de novo ОПечН и не отражают особенности поражения печени при токсических, гипоксических и эндотоксических состояниях, которые являются наиболее распространёнными причинами развития ОПечН в системе экстренной помощи Узбекистана.

Практическая работа отделений токсикологии и реанимации РНЦЭМП показала, что у значительной части пациентов, особенно при алкогольных, медикаментозных и эндотоксических поражениях печени, наблюдается

ранняя гипераммониемия при минимальных изменениях печёночных тестов и коагулограммы. Именно этот феномен стал ключевой отправной точкой для создания новой, усовершенствованной классификации. Многолетние наблюдения, выполненные в рамках фундаментальных и прикладных исследований (гранты АДСС-15.4.5, ФЗ 2020100418) и анализа нескольких тысяч клинических случаев, показали, что повышение уровня свободного аммиака до 3–5 норм часто предшествует развитию клинической энцефалопатии и является не признаком терминальной стадии, как предполагалось ранее, а наоборот — ранним, субклиническим маркером нарушения детоксикации. Ещё одним важным диагностическим феноменом стало изменение соотношения аммоний/лактат — параметра, отражающего взаимодействие нарушенного орнитинового цикла и митохондриальной функции. Выявлено, что рост лактата даже на уровне 2–3 ммоль/л при одновременном увеличении аммиака свидетельствует о начале энергетической недостаточности гепатоцитов и может рассматриваться как ранний прогностический индикатор ОПечН [13].

Эти данные позволили пересмотреть классическое представление о последовательности событий при ОПечН. Понимание того, что токсическая, гипоксическая или эндотоксическая нагрузка приводит сперва к нарушению детоксикации и биоэнергетики, а затем к цитолизу и синтетической недостаточности, заставило сформулировать новый принцип классификации — от повреждения функции к повреждению структуры. Такой подход в корне отличается от традиционных моделей, ориентированных преимущественно на выраженность лабораторных отклонений или стадию энцефалопатии.

Разрешите представить данную классификацию:

## **5.2. Клиническая классификация стадий ОПечН (РНЦЭМП):**

### **Стадия 0 — доклиническая («пре-ОПечН»)**

- Биомаркеры:
  - Свободный аммиак устойчиво > верхней границы нормы (обычно >80–100 мкмоль/л) при минимальных изменениях АлТ/АсТ и билирубина.

- Аммоний/лактат: положительная корреляция; лактат может быть на верхней границе нормы/умеренно повышен ( $\approx 2.0\text{--}2.5$  ммоль/л).
- МНО/ПТИ: в норме.
- Клиника: нет явной ПЭ; возможны астения, инверсия сна, легкая когнитивная заторможенность.

**Стадия I — начальная (компенсированная).** начальная декомпенсация детоксикации и синтетической функции без системных сбоев.

- Биомаркеры: аммиак чаще  $100\text{--}150$  мкмоль/л; лактат  $\leq 2.5\text{--}3.0$  ммоль/л; МНО  $1.3\text{--}1.5$ ; билирубин  $< 50\text{--}100$  мкмоль/л; возможна начинающаяся билирубино-ферментная диссоциация.
- Клиника: ПЭ I (прекома-1): заторможенность, инверсия сна, легкий «астериксис»; гемодинамика сохранна.

• **Стадия II — выраженная (декомпенсированная).** Прогрессирующая печёночная и начинающаяся системная дисфункция.

- Биомаркеры: аммиак  $\approx 150\text{--}200$  мкмоль/л; лактат  $2.5\text{--}4.0$  ммоль/л; МНО  $1.5\text{--}2.5$  (ПТИ  $\leq 60\text{--}50\%$ ); снижается фибриноген; билирубин  $100\text{--}200$  мкмоль/л.
- Клиника: ПЭ II (прекома-2): сонливость, дезориентация, выраженный «астериксис»; возможны SIRS/инфекции; начальные признаки почечной дисфункции.

**Стадия III — терминальная предкоматозная (дистрофическая)**

- Биомаркеры: аммиак  $> 200$  мкмоль/л; лактат  $> 4.0$  ммоль/л; МНО  $> 2.5$  или протромбиновое время  $> 50$  с; выраженная билирубино-ферментная диссоциация (падение АлТ/АсТ на фоне роста билирубина); гипогликемии.
- Клиника: ПЭ III (кома-1): отсутствует реакция на окрик, грубые неврологические знаки; высокий риск отёка мозга; нередко ОПН почек, геморрагический синдром.
- Интерпретация: стадия высокой летальности; окно для экстракорпоральной поддержки/обсуждения трансплантации.

## Стадия IV — печёночная кома

- **Биомаркеры:** МНО часто  $>3.5$  или протромбиновое время  $>100$  с; креатинин/азотистые маркеры резко повышены; лактат  $>5$  ммоль/л; тяжёлая гипогликемия.
- **Клиника:** ПЭ IV (кома-2): отсутствуют реакции на любые стимулы; нередко многоорганная недостаточность.
- **Интерпретация:** терминальная стадия; лечение — интенсивная поддержка и экстренное решение по трансплантации по критериям Лондонского Королевского колледжа (при наличии показаний).

## Модификаторы этиологии (для каждой стадии отмечать литеры)

- **[Т] токсическая/лекарственная** (в т.ч. парацетамол): возможен сверхострый профиль с быстрым ростом аминотрансфераз, лактата и переходом в III–IV за часы.
- **[V] вирусная** (ВГА/ВГЕ/ВГВ и др.): чаще подострый ход, более выраженная желтуха.
- **[Н] гипоксическая/ишемическая:** высокий лактат, быстрое снижение трансаминаз после стабилизации гемодинамики.
- **[Е] эндотоксическая/хирургическая (ожоги, перитонит и т.п.):** ранняя гипераммониемия на фоне минимальных ферментных сдвигов.

## Примеры формулировки диагноза

- «ОПечН, Стадия I [Т], гипераммониемия 130 мкмоль/л, МНО 1.4, лактат 2.3 ммоль/л, ПЭ I».
- «ОПечН, Стадия III [V], аммиак 265 мкмоль/л, МНО 2.9, билирубин 260 мкмоль/л, ПЭ III, риск отёка мозга».

Новая классификация предлагает разделить процесс развития ОПечН на пять последовательных стадий, начиная с доклинической (нулевой), когда органические повреждения печени минимальны, но функциональная нагрузка существенно превышает возможности детоксикационных систем. Введение нулевой стадии является принципиально важным новшеством и адресует главную проблему современной диагностики — позднее распознавание. В

отличие от прежних классификаций, где диагноз ОПечН устанавливается лишь при наличии явной энцефалопатии и коагулопатии, новая модель позволяет идентифицировать пациентов группы риска на этапе, когда вмешательство способно полностью предотвратить прогрессирование процесса.

Последующие стадии — I, II, III и IV — отражают последовательное ухудшение состояния больного, включающее клинические проявления, динамику аммиака, лактата, билирубина, МНО и ПТИ, а также степень печёночной энцефалопатии по шкале West Haven [10]. При этом большое внимание уделено таким патогномичным признакам, как билирубино-ферментная диссоциация, снижение фибриногена и альбумина, нарушение кислотно-щелочного состояния, формирование нервно-метаболических нарушений и развитие полиорганной недостаточности.

Одним из ключевых преимуществ новой классификации является её клиничко-патофизиологическая логика. Она построена не на формальной группировке лабораторных показателей, а на понимании последовательности метаболических нарушений: от первичного угнетения орнитинового цикла и цитохромных систем — к нарушению энергетического обмена, затем — к системному воспалению, гиперлактатемии, нейротоксическому поражению мозга и, наконец, к глубокому структурному поражению гепатоцитов с формированием массивных некрозов. Именно такой подход позволяет не только фиксировать факт заболевания, но и прогнозировать его развитие, что особенно важно в условиях экстренной медицины, где время играет решающую роль.

Новизна классификации заключается и в том, что каждая стадия содержит чёткие, проверенные на клиническом материале биохимические и клинические ориентиры, позволяющие врачу быстро оценивать динамику и определять тактику лечения. В отличие от традиционных шкал, требующих сложных расчётов или дорогостоящих анализов, предложенная система опирается на доступные в любой больнице параметры — уровень аммиака,

лактата, МНО, билирубина и клиническое состояние пациента. Это делает классификацию применимой как в учреждениях высокого уровня, так и в районных больницах, куда часто поступают пациенты с тяжёлыми отравлениями, травмами и хирургическими эндотоксикозами.

Кроме того, классификация адаптирована к специфике патологии, наиболее распространённой в Узбекистане, где значительная доля случаев связана с алкогольными, укусными, медикаментозными отравлениями и тяжёлыми хирургическими эндотоксикозами, что отличает её от западных моделей, ориентированных преимущественно на парацетамоловую интоксикацию и вирусные гепатиты.

**Выводы.** 1. Применение данной классификации в клинической практике позволяет существенно расширить возможности раннего вмешательства, повысить точность диагностики, улучшить стратификацию пациентов и своевременно определять показания к интенсивной терапии и трансплантации печени.

2. Классификация создаёт единый язык общения между врачами различных специальностей — токсикологами, анестезиологами-реаниматологами, хирургами, гепатологами и способствует стандартизации подходов к ведению пациентов с ОПечН в условиях современной экстренной медицины.

## ГЛАВА VI. ВОПРОСЫ ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ ТОКСИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ ПЕЧЕНИ И ПРОФИЛАКТИКИ РАЗВИТИЯ ОСТРОЙ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ.

**Введение.** Полученные сведения в результате позволили предположить, что гипераммониемия является показателем не терминальной стадии печеночной недостаточности, а наоборот ранним ее маркером, еще до выраженной клинической манифестации. Так как гипераммониемия приводит к увеличению сродства кислорода к гемоглобину и ухудшению его отдачи в ткани, то развивается тканевая гипоксия с соответствующим ростом уровня лактата крови.

Таким образом, считаем огромное значение в интенсивной терапии токсических поражений печени будет иметь включение в комплекс лечебных мероприятий препаратов, обладающих антиоксидантными, антигипоксантными и дезинтоксикационными свойствами. В последние годы ряд серьезных клинических исследований как в нашей стране, так и в ведущих клиниках дальнего зарубежья показал высокую эффективность так называемых гепатопротекторов глюкуронатов. Применение таких препаратов позволяет снизить повреждающее действие продуктов перекисного окисления липидов и улучшить репаративные процессы в печени, корригируя развивающиеся нарушения.

**6.1. Материал и методы.** Объектом исследования послужили 120 больных с токсическими поражениями печени различной этиологии, находившихся на лечении в отделениях токсикологии и комбустиологии РНЦЭМП в 2022-2024 гг (возраст - от 35 до 55 лет).

Из общего числа исследуемых пациентов 94 (78,3%) больных было с острыми отравлениями, 26 (21,7%) больных с ожогами. Распределение больных по нозологиям представлено в рис 6.1.

Среди пациентов с острыми отравлениями гепатотоксичными ядами преобладали больные с алкогольной интоксикацией – 52 пациента, а также отравлениями гепатотоксичными медикаментами (парацетамол, альбендазол,

изониазид) – 24 больных и тяжелые отравления уксусной кислотой осложненные токсическим гепатитом – 18. Среди пациентов с ожогами преобладали пострадавшие с обширными и глубокими ожогами и индексом Франка свыше 60 ЕД (рис 6.1).

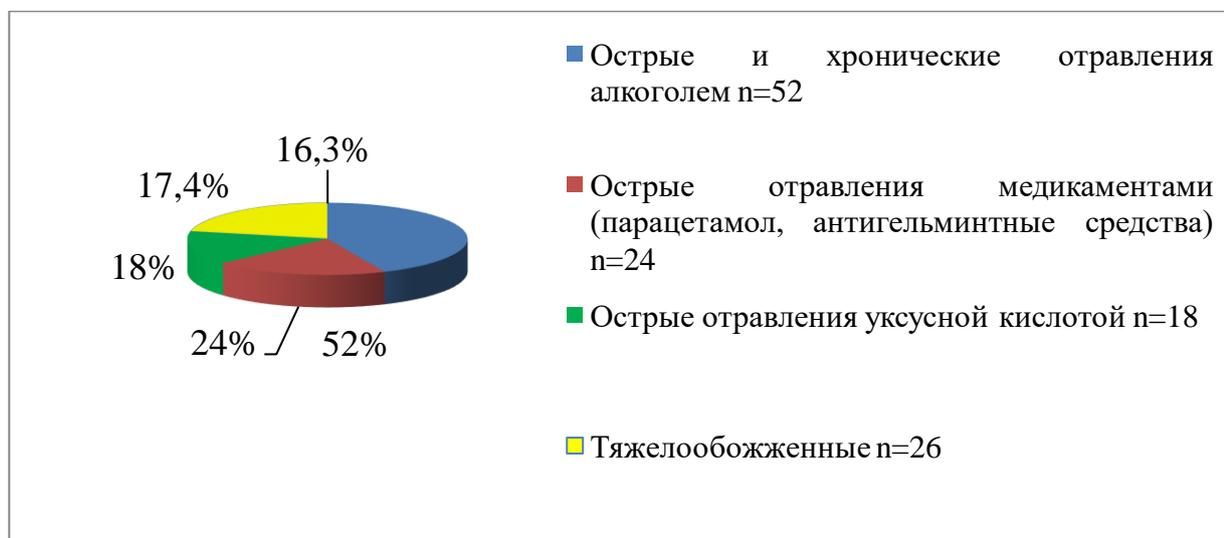


Рис. 6.1. Распределение больных с токсическими гепатитами по основным нозологиям, n=120.

Изучение проводилось в двух группах больных.

I группа - 60 больных поступивших в 2023 году, которые помимо традиционной терапии получали комплексный препарат «Джетепар» (Popular Chemical Works (Pvt.) Ltd, Pakistan, по лицензии: Rotta ResearchLaboratorium, Милан, Италия) в составе которого есть высокоэффективные гепатопротекторы глюкодиамин, глюкометамин и активный метаболит никотинамид в форме аскорбата. Препарат вводился внутривенно капельно по 20 мл, в 200,0 мл 0,9% натрия хлорида два раза в день, на протяжении 5 дней на фоне базисной терапии.

Все пациенты и добровольцы, участвовавшие в научном и клиническом исследовании, дали на это письменное добровольное информированное согласие, а исследование выполнено в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (в ред. 2013 г.), заключение Этического комитета РУз 1/8-1733 от 21 февраля 2023 года.

II группа (группа сравнения) - 60 пациентов обратившихся в 2022 гг, получивших традиционную терапию включающую в себя очищение желудочно-кишечного тракта, энтеросорбцию, инфузионную терапию кристаллоидными растворами с форсированным диурезом, витаминотерапию, местную терапию.

Демографические показатели представлены в таблице 6.1

Таблица 6.1 - Демографические показатели проспективной группы больных (n=120)

Параметры	Группа I n=60	Группа II n=60
Средний возраст, лет	39,5±4,7	41,2±5,3
Мужчин, n (%)	39 (65,%)	34 (56,6%)
Женщин n (%)	21 (35%)	26 (43,4%)

Как видно из таблицы среди пациентов обеих групп преобладали больные мужского пола в наиболее социально активном возрасте от 35 до 42 лет.

Всем поступившим изучали уровень ферментов печени (АлТ, АсТ), билирубина, лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ), свободного аммиака и лактата при поступлении и в динамике на 5 сутки. Показатели исследовали на полуавтоматическом биохимическом анализаторе – Mindray BA-88A (2019) и на автоматическом биохимическом анализаторе - BioSystems A15 (2018) с использованием реактивов этой же фирмы.

Оценку тяжести нарушений интеллекта изучали с использованием шкалы MMSE по 10 позициям, шкалы FAB по 6 позициям и теста Рейтана на 2-е и 5-е сутки от начала лечения.

Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с использованием программного обеспечения «Microsoft Office Excel» для Windows и «Statistica 10.0». Для оценки статистической значимости различий двух групп по каким-либо параметрам при распределении признаков, отличном от нормального, использовался критерий Манна – Уитни. Для

оценки связи между двумя признаками использовался коэффициент ранговой корреляции Спирмена с оценкой его значимости. Достоверными принимали различия при  $p < 0,05$ .

**6.2. Результаты исследования.** Исходные показатели у всех обследованных больных свидетельствуют о серьезных нарушениях системы гомеостаза, наступивших в результате токсического поражения печени (диаграммы 6.2-6.7). Показатели ферментов I группы составили - АлТ –  $138,2 \pm 24,23$  у/л, АсТ-  $125,3 \pm 25$  у/л, билирубина –  $26,3 \pm 3,9$  ммоль/л, свободного аммиака -  $163,4 \pm 40,5$  мкмоль/л, лактата –  $4,58 \pm 0,66$  ммоль/л, уровень ЩФ наблюдался в пределах -  $159,2 \pm 32,7$  у/л , ЛДГ -  $616 \pm 113,2$  у/л. Во II группе отмечалась аналогичная картина – уровень АлТ -  $149,5 \pm 26$ , у/л, АсТ-  $154,7 \pm 31,4$  у/л, билирубина –  $27,1 \pm 4,7$  ммоль/л, свободного аммиака –  $157,4 \pm 30,5$  мкмоль/л, лактата –  $4,69 \pm 0,65$  ммоль/л, уровень ЩФ наблюдался в пределах -  $156,5 \pm 32,7$  у/л , ЛДГ –  $645,8 \pm 93$  у/л .

Таким образом, данные анализов обеих групп были сопоставимы по тяжести гепатита (рис 6.2-6.7).

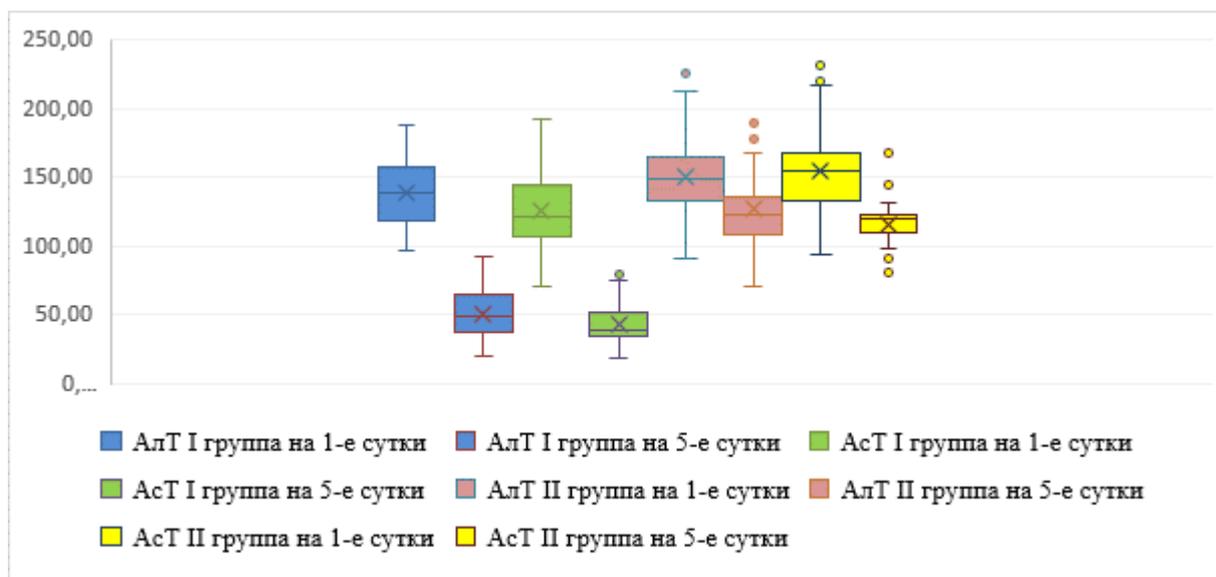


Рис.6.2. Показатели ферментов печени у пациентов I (n=60) и II (n=60) групп, норма АлТ-0-42, АсТ 0-38 у/л, статистическая разница начальных значений и значений для 5-х суток равна  $p < 0,05$ .

Изучение уровня энзиматических ферментов печени показал, что на фоне инфузий комплексного гепатопротектора на основе бетаин глюкуроната к 5-м суткам у пациентов I группы отмечалось снижение АлТ на 63,7%, АсТ на 66,4% от исходных показателей, что в 3,9 и 2,6 ниже чем в группе сравнения (рис 2).

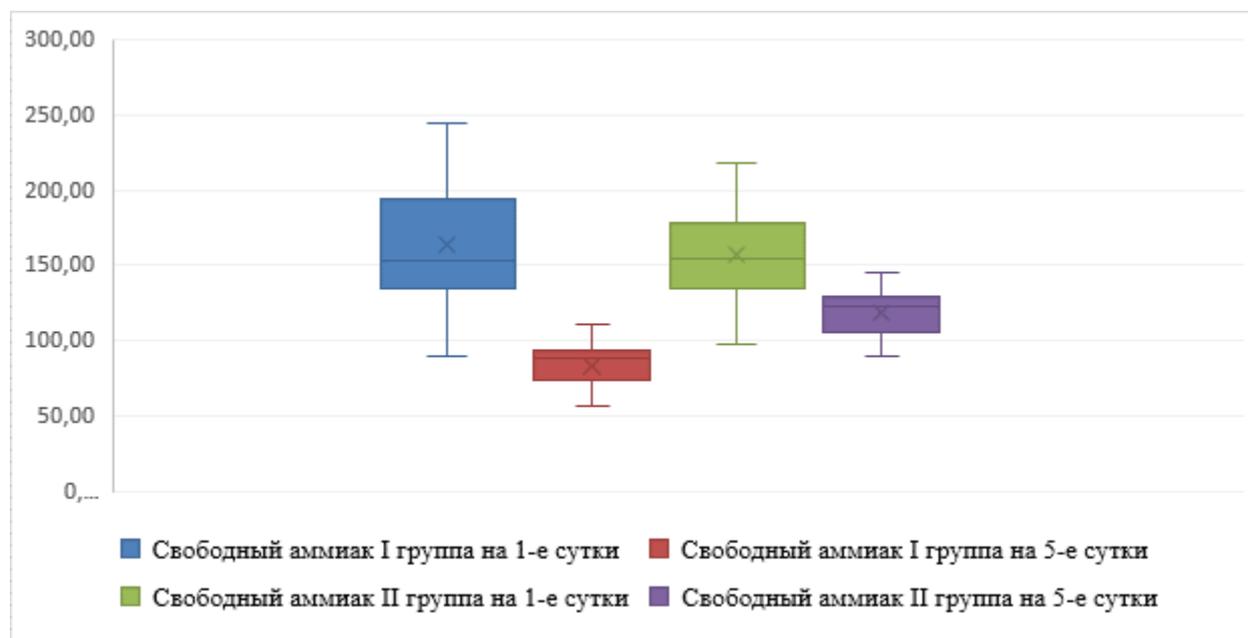


Рис. 6.3. Динамика снижения свободного аммиака у пациентов I (n=60) и II (n=60) групп, норма до 60 мкмоль/л, статистическая разница начальных значений и значений для 5-х суток равна  $p < 0,05$ .

Дезинтоксикационные свойства комплексного гепатопротектора были отчетливо видны по динамике снижения уровня свободного аммиака в основной группе (I) - на 52% от исходного уровня, практически до физиологической нормы, в то время как в группе сравнения (II) концентрация данного токсичного метаболита в крови снизилась всего лишь на 24,8%, что в 2,2 раза хуже чем в основной и свидетельствовало о продолжающейся гипераммониемии (рис 6.3).

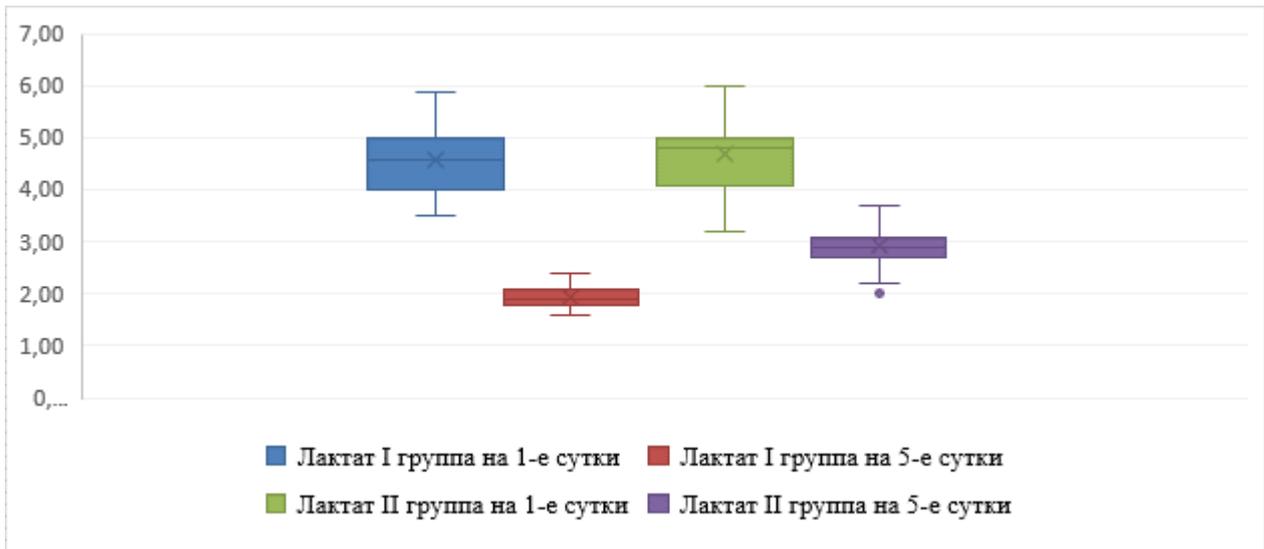


Рис. 6.4. Показатели лактата у пациентов I (n=60) и II (n=60) групп, норма 0,9-1,6 ммоль/л, статистическая разница начальных значений и значений для 5-х суток равна  $p < 0,05$ .

Гипераммониемия приводит к развитию тканевой гипоксии, которая проявляется значительным повышением концентрации лактата крови, что было подтверждено высоким уровнем данного показателя у всех наших пациентов. Активное снижение аммиака при применении комплексного гепатопротектора способствовало также значительному снижению образования лактата к 5-м суткам в организме пациентов I группы - на 57% от исходного уровня, в то время как во II группе снижение лактата было на 38,1%, до  $2,9 \pm 0,35$  ммоль/л, что в 1,5 раза выше чем в основной группе (рис 6.4).

Изучение уровня билирубина в обеих группах показало, что его повышение было незначительным у всех исследуемых пациентов, а разница снижения на фоне традиционного лечения и применения гепатопротекции статистически недостоверной (рис 6.5).

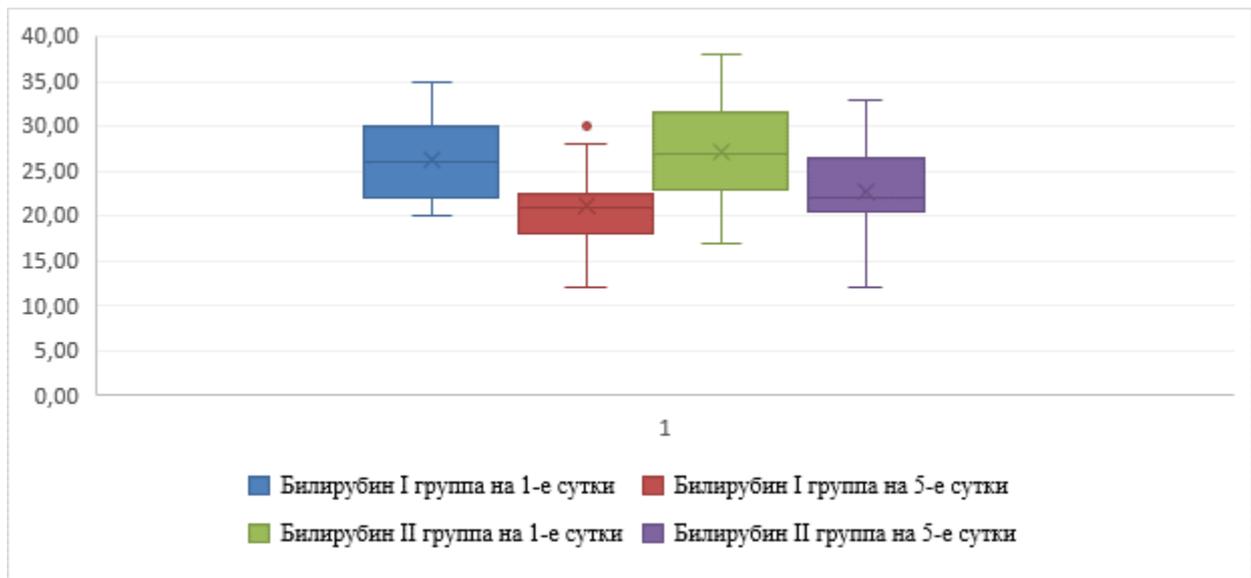


Рис. 6.5. Уровень билирубина у пациентов I (n=60) и II (n=60) групп, норма 8,3-20,5 ммоль/л.

Аналогичные данные были получены при исследовании уровня фермента лактатдегидрогеназы (ЛДГ), ее повышение в обеих группах было невысоким, разница динамики снижения в основной и сравнительной группах незначительной и статистически недостоверной (рис 6.6).

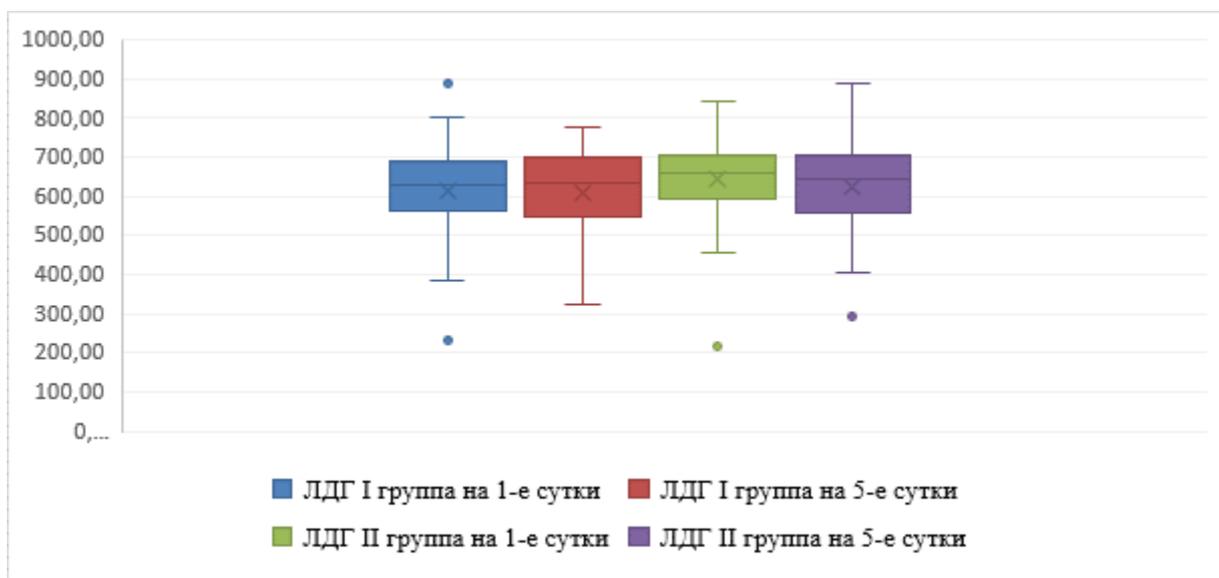


Рис. 6.6. Уровень ЛДГ у пациентов I (n=60) и II (n=60) групп, норма 330-618 u/l.

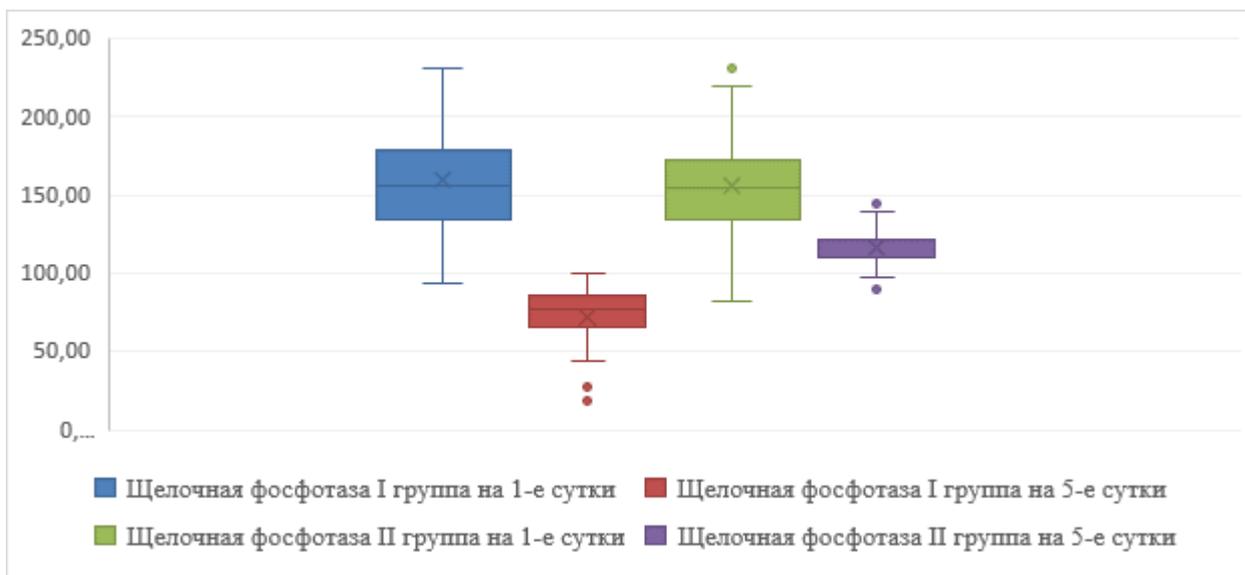


Рис. 6.7. Динамика снижения ЩФ у пациентов I (n=60) и II (n=60) групп, норма до 28-119 u/l, статистическая разница начальных значений и значений для 5-х суток равна  $p < 0,05$ .

Токсический характер гепатита у исследуемых пациентов был подтверждён значительным повышением уровня щелочной фосфатазы в обеих группах. Однако на фоне применения комплексного гепатопротектора на основе бетаина глюкуроната у больных I группы нами наблюдалось активное ее снижение по отношению к показателям при поступлении – на 54,2%. В группе сравнения (II) концентрация ЩФ также уменьшилась, но только на 25%, то есть в 2,1 раза меньше чем в основной (рис 6.7).

Изучение когнитивных функций при поступлении в обеих группах было затруднено из-за тяжести состояния больных.

Согласно проведенному скринингу уровня интеллекта по шкале MMSE у пациентов I группы на 2-е сутки отмечались легкие когнитивные нарушения -  $22 \pm 1,4$ , а на 5-е когнитивный дефицит был практически купирован и суммарный балл составил в среднем  $28 \pm 1,6$  балла. Что касается пациентов группы сравнения, то показатели шкалы MMSE по всем позициям на 2-е и 5-е сутки были в 1,4, 1,5 ниже, чем в основной группе (таблица 6.2).

Таблица 6.2 Динамика восстановления интеллектуальной сферы у пациентов с острыми отравлениями алкоголем на фоне рациональной комплексной терапии (n=120)

Показатель, (норма)	Группы	2-е сутки	$\Delta\%^{1}$	5-е сутки	$\Delta\%^{1}$
Шкала MMSE (баллы) (n 28-30 баллов)	I группа (n=60)	22±1,4	- 21,4	28±1,6*	+27,2
	II группа (n=60)	19±1,2	- 32,1	23±0,7*	+15,7
Шкала FAB (баллы) (n 16-18 баллов)	I группа (n=60)	14,2±0,8	-11,2	17,7±0,1*	+24,6
	II группа (n=60)	11,3±0,4	-29,3	13,4±1,1*	+18,5
Тест Рейтана (сек) (n до 100 сек)	I группа (n=60)	118±12	+18	78±11*	-33,8
	II группа (n=60)	138±14	+38	112±11*	-18,8

*Примечания:*

<sup>1</sup> -  $\Delta\%$  - данные 1-й графы (при поступлении) – по отношению к норме

<sup>2</sup> -  $\Delta\%$  - данные 2-й графы (5-е сутки) – по отношению к исходным показателям

\* - статистическая разница начальных значений и значений для 5-го дня равна  $p < 0,05$ .

Анализ когнитивных функций по шкале FAB на фоне проводимой гепатопротекторной терапии показал практически полное их восстановление в основной группе уже на 2-е сутки с момента поступления в стационар, тогда как во II группе даже на 5-е сутки продолжали сохраняться нарушения концептуализации и динамического праксиса. Суммарный результат теста у пациентов II группы на 5-е сутки не превышал в среднем 13,4±1,1 балла, что 1,2 раза ниже, чем в I группе (таблица 6.2).

Что касается маркера печеночной энцефалопатии – теста Рейтана, то пациенты получавшие гепатопротектор на основе бетаин глюкуроната, уже на

2-е сутки выполняли этот тест практически в пределах нормы – за  $118 \pm 12$  секунд, на 5-е сутки скорость выполнения теста была такая же как у здоровых людей, во II группе данные теста на 2-е сутки были хуже чем в основной в 1,2 раза и на 5-е также сохранялся когнитивный дефицит с превышением нормальной скорости его выполнения.

Обсуждение. Изучение биохимических показателей и когнитивных функций у наших пациентов показало не только явную манифестацию токсического гепатита, но и развитие скрытой печеночной энцефалопатии. Снижение уровня когнитивных функций наиболее вероятно связано с повышением свободного аммиака, который при нарушении дезинтоксикационной функции печени в организме обезвреживается через глутаматный цикл с образованием ложного возбуждающего нейромедиатора глутамна [1, 2, 19]. Не менее важное значение в развитии энцефалопатии при токсических гепатитах играет тканевая гипоксия, ярким маркером которой служит высокий уровень лактата крови.

Проведенное нами исследование показало, что препарат Джетепар, в состав которого входят гепатопротекторные метаболиты (глюкометамин, глюкотиамин и никотиноамида аскорбат) с различной направленностью фармакокинетических и фармакодинамических параметров, действительно положительно влиял на динамику снижения таких печеночных показателей как ферментативные показатели АлТ, АсТ, ЩФ. Препарат также оказывает специфическое антитоксическое действие. Глюкометамин (бетаин глюкуронат), попадая в печень, распадается на бетаин и глюкуроновую кислоту [8, 15]. Бетаин обладает эффективным липотропным и детоксикационным действием, а также является донором метильных групп. Глюкометамин обладает сильным детоксикационным и гликогенным действием, является основным веществом, участвующим в дезинтоксикационных реакциях которые происходят в печени. Глюкотиамин (диэтаноломина глюкуронат) дополняет дезинтоксикационное и гепатопротективное действие глюкуроновой кислоты [15]. Такое действие

препарата позволяет не только снизить активность цитолиза в печени, но и путем восстановления дезинтоксикационной функции печени опосредованно положительно влиять на уровень свободного аммиака, что и было подтверждено динамикой его снижения у пациентов основной группы.

Никотинамид I (NAD) и II (NADP), участвуют в окислительно-восстановительных процессах в клетках и в метаболизме жиров, протеинов, аминокислот, пуринов, тканевом дыхании и гликогенезе [9, 15]. Полученные нами данные по динамике снижения лактата в I группе, позволяют предположить, что именно комбинированное сочетание никотинамида и аскорбата обуславливают антигипоксикантный эффект препарата «Джетепар».

**Выводы.** Резюмируя наши данные можно прийти к следующим выводам:

1. Как уже ранее было изучено токсические поражения печени, вне зависимости от этиологии гепатита, сопровождаются не только ферментопатией, но и выраженной гипераммониемией, гиперлактатемией и соответственно токсико-гипоксической энцефалопатией.
2. Применение современного гепатопротектора «Джетепара» эффективно купирует метаболические, когнитивные расстройства у больных с токсическими гепатитами.
3. Положительное действие препарата обусловлено именно его комбинированным составом, поскольку он содержит вещества, поддерживающие функции печени, нарушенные гепатотоксинами.
4. Полученные данные позволяют рекомендовать при токсических гепатитах, инфузии препарата «Джетепар» в среднем по 20,0 мл 2 раза в сутки не менее 5 дней.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Острая печеночная недостаточность (ОПечН) представляет собой сложный полиэтиологический и многокомпонентный синдром, объединяющий широкий спектр патологических процессов, которые развиваются при токсических, инфекционных, ишемических, метаболических и аутоиммунных воздействиях. Современные клинические и экспериментальные исследования, обобщенные в данной монографии, позволяют рассматривать ОПечН не как изолированное поражение печени, а как системную реакцию организма, в которой печень является центральным, но не единственным звеном патогенеза. Главным направлением современной науки становится раннее выявление субклинических нарушений и профилактика перехода компенсированных форм поражения печени в декомпенсированные, что определяет исход заболевания и шансы на выживание.

Проведенные клинические наблюдения в Республиканском научном центре экстренной медицинской помощи показали, что наиболее частыми причинами развития ОПечН являются токсические и лекарственные поражения печени, а также тяжелые эндотоксикозы при ожоговой болезни. Установлено, что развитие острой печеночной недостаточности сопровождается высоким уровнем летальности, достигающим 50% и более, особенно при алкогольных интоксикациях и отравлениях уксусной кислотой. Эти данные коррелируют с международными статистическими наблюдениями, подтверждая актуальность проблемы и необходимость разработки новых диагностических и терапевтических подходов.

Особое внимание в монографии уделено роли свободного аммиака как раннего биохимического маркера токсического поражения печени. Его повышение отражает тяжесть гиперamonемии и коррелирует с развитием печеночной энцефалопатии. Представленные результаты свидетельствуют о возможности использования аммиака как прогностического индикатора

начала субклинической стадии ОПечН, что открывает перспективы для раннего вмешательства и профилактики тяжелых осложнений.

Большой вклад в понимание патогенеза внесли исследования митохондриальной дисфункции и нарушений энергетического обмена. Экспериментальные модели тетрахлорметановой интоксикации продемонстрировали, что подавление дыхательной цепи митохондрий, снижение активности NADH- и FAD-зависимых ферментов, а также развитие гипоксии приводят к энергетическому коллапсу клетки и активации свободнорадикальных процессов. Эти данные подтверждают, что митохондриальная недостаточность является универсальным механизмом гибели гепатоцитов при самых разных этиологических формах заболевания. Применение сукцинатсодержащих антигипоксантов в эксперименте показало выраженный протективный эффект — восстановление энергетического обмена, снижение уровня лактата и уменьшение некротических изменений в ткани печени. Данный факт обосновывает возможность включения метаболических коррегентов в комплексную терапию ОПечН как патогенетически обоснованного звена лечения.

Не менее значимыми являются результаты иммунологических и генетических исследований, представленных в монографии. Выявлено, что у пациентов с токсическими гепатитами и ОПечН отмечается изменение активности глутатион-S-трансферазы (GSTP1) и цитохрома P450 (CYP2E1), что свидетельствует о вовлечении систем детоксикации в формирование индивидуальной чувствительности к токсическим воздействиям. Генетические полиморфизмы данных ферментов могут служить предикторами риска тяжелого течения заболевания и должны учитываться при персонализированном выборе терапии. Иммунологические нарушения проявляются дисбалансом цитокинов, активацией воспалительных каскадов и развитием системного воспалительного ответа, что формирует основу для полиорганной недостаточности.

Морфологические исследования подтвердили тесную связь между степенью цитолиза, выраженностью дистрофических процессов, нарушением микроциркуляции и клинической тяжестью состояния. Выраженные признаки жировой и белковой дистрофии гепатоцитов, появление телец Каунсильмена, отек и полнокровие синусоидов отражают остроту поражения и соответствуют дистрофическим и терминальным стадиям заболевания. Эти данные позволяют использовать морфологические критерии в качестве дополнительного инструмента для уточнения стадии и прогнозирования исхода ОПечН.

Отдельного внимания заслуживает разработанная шкала прогнозирования риска развития ОПечН, основанная на интегральной оценке клиничко-лабораторных и инструментальных показателей. В отличие от существующих зарубежных моделей (MELD, CLIF-SOFA, King's College Criteria), предложенный подход адаптирован к условиям экстренной медицины и учитывает особенности течения заболевания у больных с острыми интоксикациями и эндотоксикозами. Практическая апробация показала высокую чувствительность и прогностическую ценность шкалы, что открывает возможности для раннего выявления угрожающих состояний и своевременного начала интенсивной терапии.

В разделе, посвященном интенсивной терапии, представлен комплексный подход, включающий коррекцию гемодинамических нарушений, борьбу с гипоксией, контроль гиперамонемии, дезинтоксикационные мероприятия и метаболическую поддержку. Акцент делается на необходимости раннего начала терапии, мультидисциплинарного взаимодействия и индивидуального подбора антигипоксантов, антиоксидантов, плазмафереза и методов экстракорпоральной детоксикации..

Таким образом, комплекс проведенных исследований и представленные данные убедительно демонстрируют, что патогенез острой печеночной недостаточности является многозвенным процессом, включающим последовательное поражение клеточного, органного и системного уровней.

Центральное место занимают митохондриальная дисфункция, гипоксия, оксидативный стресс, иммунные и микроциркуляторные расстройства, формирующие основу для полиорганной недостаточности. Эффективное лечение возможно только при интеграции лабораторных, инструментальных, генетических и клинических методов диагностики с ранним применением патогенетически направленной терапии.

Завершая данную монографию, следует подчеркнуть, что представленные результаты не только углубляют теоретическое понимание проблемы, но и имеют практическое значение для клиницистов. Внедрение предложенных методов ранней диагностики, прогностических шкал и метаболической терапии позволит снизить летальность, сократить сроки пребывания больных в отделениях интенсивной терапии и повысить эффективность лечения. В будущем перспективным направлением становится дальнейшее развитие биомаркеров митохондриальной дисфункции, совершенствование методов клеточной терапии и создание алгоритмов персонализированного ведения пациентов с риском развития ОПечН.

Именно интеграция фундаментальных знаний, клинических наблюдений и экспериментальных исследований создает основу для формирования новой концепции понимания и лечения острой печеночной недостаточности — как синдрома, отражающего системный ответ организма на критическое повреждение, требующего ранней диагностики, комплексного подхода и активной профилактики на докомпенсированных стадиях.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анарбекова А. и соавт. Анализ генов детоксикации ксенобиотиков и репарации ДНК у населения, проживающего на территориях, загрязненных пестицидами // Вестник КазНМУ. 2021. №2. С. 203-206
2. Безвуляк Е.И., Башарин В.А., Епифанцев А.В. Возможности профилактики токсического лекарственно-индуцированного поражения печени при химиотерапии онкологических заболеваний // Медицинский совет. – 2020. – № 5. – С. 42-49.
3. Галеева З.М., Галиуллин О.Ф., Езюкова Е.Г., Тухбатуллина Р.Г. Гипераммониемия в клинической практике: анализ собственных клинических наблюдений // Медицинский алфавит. – 2019. – Т. 4, № 38(413). – С. 23-26. – DOI 10.33667/2078-5631-2019-4-38(413)-23-26.
4. Галимова С.Ф. Лекарственные поражения печени // РЖГГК. - 2012. - №3. - С. 38-47.
5. Дуданова О.П., Шубина М.Э., Родина А.С. Роль тканевых молекулярных патогенов в развитии острой хронической печеночной недостаточности при алкогольном циррозе печени // Медицинский алфавит. – 2021. – № 35. – С. 19-22. – DOI 10.33667/2078-5631-2021-35-19-22.
6. Думанский Ю.В., Кабанова Н.В., Верхулецкий И.Е. и соавт. Острая печеночная недостаточность // Медицина неотложных состояний. - 2012. - Т.6. - №45. - С.23-28.
7. Еремеева Л. Ф., Бердников А. П., Заболотских И. Б. Прогнозирование летальности при острой печеночной недостаточности // Анестезиология и реаниматология. 2013. №6. - С.14-16.
8. Жилин, И. В. Прогнозирование послеоперационной острой печеночной недостаточности // Научный вестник здравоохранения Кубани. – 2016. – № 5(47). – С. 1-9.
9. Жилин, И. В. Прогнозирование развития различных форм острой печеночной недостаточности у пациентов после малоинвазивного

- дренирования желчевыводящих путей // Вестник интенсивной терапии. – 2015. – № 5. – С. 102-105.
- 10.Исраилова В.К., Айткожин Г.К. Современные представления о печеночной недостаточности и методы их лечения // Вестн. КАЗМНУ. - 2012. - №1. - С. 36-44.
- 11.Косик А.А., Дунаевская С.С., Наркевич А.Н. Прогноз риска развития острой печеночной недостаточности до операции// Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2022614603 Российская Федерация. 23.03.2022.
- 12.Кюркчиев Д., Бочев И., Иванова-Тодорова Е и др., Secretion of immunoregulatory cytokines by mesenchymal stem cells. // World J Stem Cells. - 2014. - V. 6(5). - P. 552– 570.
- 13.Лодягин А.Н., Синенченко А.Г., Батоцыренов Б.В., Синенченко Г.И. Влияние гипераммониемии на течение делириозного синдрома при острых тяжёлых отравлениях 1,4-бутандиолом и способы её коррекции // Токсикологический вестник. 2022. Т30(4). - С.223-230
- 14.Лукашик С.П., Карпов И.А. Острая печеночная недостаточность у взрослых. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2019 .Том 21 (1):46-55
15. Ливанов Г.А., Шикалова И.А. и соавт. Сравнительная оценка влияния ремаксола и адеметионина на клиническое течение и динамику показателей углеводного и белкового обмена у больных с острыми отравлениями этанолом на фоне алкогольных поражений печени / Экспериментальная и клиническая фармакология. 2015. Т. 78. № 4. С. 25-28.
- 16.Лазебник Л.Б., Голованова Е.В. и соавт. Российский консенсус "Гипераммониемии у взрослых" // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2021№12. – С 7-8, 11
17. Лурье Ю.Э., Метелин А.В., Кузнецова А.Е. Современные прогностические модели выживаемости пациентов с терминальными стадиями заболеваний

- печени // Клиническая и экспериментальная хирургия. 2014. №2 (4). – С 48-58
18. Мирзакулов А.Г., Уразметова М.Д., Мадаминов А.А. Влияние эмбриональных гепатоцитов и эрбисола на показатели гуморального иммунитета у животных с острой печеночной недостаточностью // Инфекция, иммунитет и фармакология. -2014. -№6. - с. 117-121.
19. Назыров Ф. Г., Ибадов Р. А, Ирматов С. Х. Особенности интенсивной терапии внепеченочных осложнений при острой печеночной недостаточности // Журнал теоретической и клинической медицины. – 2020. – № 4. – С. 58-62.
20. Назыров Ф. Г., Ибадов Р. А., Исмаилов Е. Л., Ибрагимов С. Х. Интегральная оценка эффективности комплексного экстракорпорального протезирования функции печени при острой печеночной недостаточности // Вестник экстренной медицины. – 2020. – Т. 13, № 1-2. – С. 33-39
21. Никифоров И.А., Чернобровкина Т.В. и соавт. Поражение печени при алкоголизме (обзор литературы). Профилактическая медицина. 2014. Т. 17. № 3. С. 57-58.
22. Решетников, Д. И. Диагностика и лечение печеночной недостаточности при остром деструктивном панкреатите // автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. – Якутск, 2009. – 21 с.
23. Синенченко А.Г., Лодягин А.Н., Коваленко А.Л., Синенченко Г.И., Батоцыренов Ч.Б. Особенности метаболических расстройств и факторы риска развития осложнений делирия при острых тяжелых отравлениях этанолом // Анестезиология и реаниматология 2021, №2, с. 110-116 <https://doi.org/10.17116/anaesthesiology2021021110> Russian Journal of Anaesthesiology and Reanimatology 2021, No. 2, pp. 110-116
24. Тарасова Л. В., Малявин А. Г., Бусалаева Е. И. Гипераммониемия как фактор риска неблагоприятного исхода у пациентов с новой

- коронавирусной инфекцией /// Доказательная гастроэнтерология. – 2022. – Т. 11, № 2. – С. 39-43. – DOI 10.17116/dokgastro20221102139.
25. Трапезникова, Е.Г. Попов В.Б., Радилов А.С., Шилов В.В. Экспериментальная оценка эффективности применения мезенхимальных стволовых клеток при остром токсическом поражении печени у лабораторных животных // Российский биомедицинский журнал. – 2020. – Т. 21. – № 61. – С. 742-756.
26. Трапезникова, Е.Г. Попов В.Б., Радилов А.С., Шилов В.В. Морфометрическая оценка регенеративных процессов в печени крыс при остром токсическом гепатите и трансплантации мезенхимальных стволовых клеток / Токсикологический вестник. – 2021. – Т. 1. – № 166. – С. 14-19.
27. Тюменцева С.Г., Шраменко Е.К., Кабанько Т.П. Прогнозирование развития острой печеночной недостаточности у больных с повреждениями печени при боевой травме // Военная и тактическая медицина, медицина неотложных состояний. – 2023. – № 3(10). – С. 29-32. – DOI 10.55359/2782-3296.2023.31.85.007
28. Уразметова М.Д., Хаджибаев Ф.А., Мирзакулов А.Г. Способ моделирования острой печеночной недостаточности в зависимости от степени тяжести. Методические рекомендации. Ташкент 2020, 26 с.
29. Хаджибаев А.М., Уразметова М.Д., Хаджибаев Ф.А., Мирзакулов А.Г. Трансплантация эмбриональных гепатоцитов при лечении острой печеночной недостаточности в эксперименте. Монография. Ташкент 2018. – С. 34-38, 135-139, 175-178.
30. Чермных М.Д., Широбокова С.С., Камышева А.Д., Стяжкина С.Н. Токсический гепатит - воспалительное заболевание печени // StudNet. – 2021. – Т. 4, № 5. – С. 21–26.
31. Хаджибаев А.М. с соавт. Проблемы применения клеточных технологий в экстренной медицине. Монография. Ташкент 2020. - С. 12-15, 77, 123-142

32. Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А., Крашенников В.М. Трансплантация гепатоцитов как метод лечения печеночной недостаточности: экспериментальный и клинический опыт // Вестник трансплантологии и искусственных органов, 2010. - №2. - С. 53-60.
33. Aleksandrovich Y.S., Lodyagin A.N., Sudnitsyn V.V., Storozhuk O.D. Acetaminophen poisoning: a cause of acute liver in pediatric (clinical case). Journal of emergency medicine trauma and surgical care. – 2020. – V. 7. P. 39., IF 0,78
34. Arshad MA, Murphy N, Bangash MN. Acute liver failure // Clin Med (Lond). 2020 Sep;20(5):505-508. doi: 10.7861/clinmed.2020-0612. PMID: 32934046; PMCID: PMC7539708.
35. Aslan M, Gül M, Üremiş N, Akbulut S, Gürünlüoğlu S, Nur Özsoy E, Türköz Y, Ateş H, Akpınar N, Gül S, Gürünlüoğlu K, Demircan M. Ninety Sixth-Hour Impact of Scalding Burns on End Organ Damage, Systemic Oxidative Stress, and Wound Healing in Rats Treated With Three Different Types of Dressings. J Burn Care Res. 2024 May 6;45(3):733-743. doi: 10.1093/jbcr/irad191. Erratum in: J Burn Care Res. 2024 Aug 6;45(4):1088. doi: 10.1093/jbcr/irae090. PMID: 38079377.
36. Asif BA, Koh C, Phillips EJ, Gu J, Li YJ. Vancomycin-Induced Liver Injury, DRESS, and HLA-A\*32:01. J Allergy Clin Immunol Pract. 2024 Jan;12(1):168-174.e2. doi: 10.1016/j.jaip.2023.09.011. Epub 2023 Sep 20. PMID: 37739311; PMCID: PMC10885131.
37. Bayram D, Aktürk Esen S, Uçar G, Köş FT. Toxic hepatitis in metastatic breast cancer patient using ribociclib and denosumab. J Oncol Pharm Pract. 2023 Sep;29(6):1494-1497. doi: 10.1177/10781552231174593. Epub 2023 May 11. PMID: 37170613.
38. Björnsson ES. Clinical management of patients with drug-induced liver injury (DILI) // United European Gastroenterol J. 2021 Sep;9(7):781-786. doi: 10.1002/ueg2.12113.

39. Björnsson ES. Liver injury associated with the analgetic drug metamizole // *Br J Clin Pharmacol*. 2020 Jul;86(7):1248-1250. doi: 10.1111/bcp.14294.
40. Bhardwaj M, Bhardwaj NJ, Cueto K, Killeen TC. Hydralazine-induced liver injury: a review and discussion. *BMJ Case Rep*. 2021 Aug 17;14(8):e243278. doi: 10.1136/bcr-2021-243278. PMID: 34404652; PMCID: PMC8375716.
41. Bhilare NV, Dhaneshwar SS, Mahadik KR, Dasgupta A. Co-drug of isoniazid and sulfur containing antioxidant for attenuation of hepatotoxicity and treatment of tuberculosis. *Drug Chem Toxicol*. 2022 Mar;45(2):850-860. doi: 10.1080/01480545.2020.1778021. Epub 2020 Jun 16. PMID: 32543916.
42. Caines A, Moonka D. Drug Hepatotoxicity: Causality Assessment. *Clin Liver Dis*. 2020 Feb;24(1):25-35. doi: 10.1016/j.cld.2019.09.001. Epub 2019 Oct 31. PMID: 31753248.
43. Campos G, Schmidt-Heck W, De Smedt J, Widera A, Godoy P. Inflammation-associated suppression of metabolic gene networks in acute and chronic liver disease. *Arch Toxicol*. 2020 Jan;94(1):205-217. doi: 10.1007/s00204-019-02630-3. Epub 2020 Jan 9. PMID: 31919559.
44. Cao Z, Xia W, Zhang X, Yuan H, Guan D, Gao L. Hepatotoxicity of nutmeg: A pilot study based on metabolomics. *Biomed Pharmacother*. 2020 Nov;131:110780. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110780. Epub 2020 Sep 24. PMID: 33152938.
45. Cao Y, Chen Z, Yin Y, Kang X, Zhang Y, Xu Z, Yang X, Yang B, He Q, Yan H, Luo P. Autophagy-dependent hepatocyte apoptosis mediates gilteritinib-induced hepatotoxicity. *Toxicol Lett*. 2025 Jul;410:189-196. doi: 10.1016/j.toxlet.2025.06.018. Epub 2025 Jun 25. PMID: 40578406.
46. Carrascosa M.F., Salcines-Caviedes J.R., Lucena M.I., Andrade R.J. Acute liver failure following atorvastatin dose escalation: is there a threshold dose for idiosyncratic hepatotoxicity? *J Hepatol*. 2015;62:751-752. DOI: 10.1016/j.jhep.2014.11.019
47. Celada-Sendino M, Álvarez-Navascués C, Rodríguez M. Disulfiram hepatotoxicity: Report of three cases. *Med Clin (Barc)*. 2022 Feb 11;158(3):145-

146. English, Spanish. doi: 10.1016/j.medcli.2021.04.011. Epub 2021 May 26. PMID: 34052023.
48. Cengiz M, Kutlu HM, Peker Cengiz B, Ayhancı A. Escin attenuates oxidative damage, apoptosis and lipid peroxidation in a model of cyclophosphamide-induced liver damage. *Drug Chem Toxicol.* 2022 May;45(3):1180-1187. doi: 10.1080/01480545.2020.1810262. Epub 2020 Aug 24. PMID: 32838567.
49. Chen A, Wang Y, Wu J, Tang D, Zhu Q, Lu A, Yang J, Cai Z, Shi J. Identification and characterization of dynamically regulated hepatitis-related genes in a concanavalin A-induced liver injury model // *Aging (Albany NY)*. 2020 Nov 18;12(22):23187-23199. doi: 10.18632/aging.104089.
50. Clemens M., McGill M.R., Arte U. Mechanisms and biomarkers of liver regeneration after drug-induced liver injury // *Adv. in Pharmacol.* 2019, V.85. P. 241-262
51. Chiew AL, Buckley NA. Acetaminophen Poisoning. *Crit Care Clin.* 2021 Jul;37(3):543-561. doi: 10.1016/j.ccc.2021.03.005. PMID: 34053705.
52. Chilvery S, Yelne A, Khurana A, Saifi MA, Bansod S, Anchi P, Godugu C. Acetaminophen induced hepatotoxicity: An overview of the promising protective effects of natural products and herbal formulations. *Phytomedicine.* 2023 Jan;108:154510. doi: 10.1016/j.phymed.2022.154510. Epub 2022 Oct 18. PMID: 36332383.
53. Chang M.L., Liaw Y.F. Hepatitis B flares in chronic hepatitis B: pathogenesis, natural course, and management. *J Hepatol.* 2014;61:1407-1417. DOI: 10.1016/j.jhep.2014.08.033
54. Dechene A., Sowa J.P., Gieseler R.K., et al. Acute liver failure is associated with elevated liver stiffness and hepatic stellate cell activation. *Hepatology.* 2010;52:1008-1016. DOI:10.1002/hep.23754
55. Devarbhavi H., Singh R., Patil M., et al. Outcome and determinants of mortality in 269 patients with combination antituberculosis drug-induced liver injury. *J Gastroenterol Hepatol.* 2013;28:161-167. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2012.07279.x

56. Demetrian A.A., Matry R.R., Hughes R.D. et al. Hepatocyte transplantation for inherited factor VII deficiency. *Transplantation* 2004; 78: 1812-1814.
57. Faybik P., Krenn C. Extracorporeal liver support // *Curr. Opin. Care.* - 2013. - Pub Med - NCBI.
58. Freimuth J., Bangen J.M., Lambertz D., Hu W. et al. Loss of caspase-8 in hepatocytes accelerates the onset of liver regeneration in mice through premature nuclear factor kappa B activation // *Hepatology.* - 2013. - May 31.
59. Fuhrmann V., Ager B., Zubkova A., et al. Hypoxic hepatitis – epidemiology, pathophysiology and clinical management. *Wien Klin. Wochenschr.* 2020;122:129-139. DOI: 10.1007/s00508-0101357-6
60. Fu S, Wu D, Jiang W, Li J, Long J, Jia C, Zhou T. Molecular Biomarkers in Drug-Induced Liver Injury: Challenges and Future Perspective // *Front Pharmacol.* 2020 Jan 30;10:1667. doi: 10.3389/fphar.2019.01667. PMID: 32082163; PMCID: PMC7002317.
61. Gomez Cabeza de Vaca V., Bernal Bellido C., Alamo Martinez J.N. et al. Liver transplantation due to fulminant hepatic failure // *Transplant. Proc.* - 2012. - Vol. 44. - N7. - P.2076-2077.
62. Gonzalez-Teran B., Cortes J.R., Manieri E. et al. Eukaryotic elongation factor 2 controls TNF- $\alpha$  translation in LPS-induced hepatitis // *J. Clin. Invest.* - 2013. - Vol. 123. - N1. - P. 164-178.
63. Grant L., Rockey D.C. Drug-induced liver injury // *Curr. Opin. Gastroenterol.* - 2012. - Vol. 28. - N3. - P. 198-202.
64. Gustot T, Fernández J, García E, et al. Clinical Course of acute-on-chronic liver failure syndrome and effects on prognosis // *Hepatology* 2015;62:243-52. DOI: 10.1002/hep.27849.
65. Hosseinneshad A., Vijaykrishnan R., Farmer M.J. Acute renal failure, thrombocytopenia, and elevated liver enzymes after concurrent abuse of alcohol and cocaine. *Clin Pract.* 2011;1:e35. DOI: 10.4081/cp.2011.e35
66. Karimova, G. A. Effect of darmonal and phytin complex compounds on carbohydrates metabolism at experimental toxic hepatitis / G. A. Karimova, S.

- D. Aminov, F. X. Dusmurodova // Eurasian Bulletin of Pediatrics. – 2022. – No. 1(12). – P. 82-86
67. Karlafti E. and co-authors. Drug-Induced Liver Injury in Hospitalized Patients during SARS-CoV-2 // *Infection Medicina (Kaunas)*. 2022 Dec 15;58(12):1848. doi: 10.3390/medicina58121848.
68. Koido M, Kawakami E, Fukumura J, Noguchi Y, Ohori M, Nio Y, Nicoletti P, Aithal GP, Daly AK, Watkins PB, Anayama H, Dragan Y, Shinozawa T, Takebe T. Polygenic architecture informs potential vulnerability to drug-induced liver injury. *Nat Med*. 2020 Oct;26(10):1541-1548. doi: 10.1038/s41591-020-1023-0. Epub 2020 Sep 7. PMID: 32895570; PMCID: PMC8482794.
69. Komarekova, I. Effects of alcohol on the brain biomembranes: a review / I Komarekova, M. Janik // *Soud. Lekc.* - 2017 - Vol. 56, № 4. - P. 499-505.
70. Krekhovska-Lepiavko OM, Lokay BA, Hudyma AA, Yastremska SO, Yurchyshyn OM, Mazur LP. The effects of L-ornitine and L-arginine on the processes of lipid peroxidation in the functional layers of kidneys on the background of acute toxic hepatitis. *Wiad Lek*. 2020;73(11):2498-2502. PMID: 33454690.
71. Kumachev A, Wu PE. Drug-induced liver injury // *CMAJ*. 2021 Mar 1;193(9):E310. doi: 10.1503/cmaj.202026.
72. Kwon J, Kim S, Yoo H, Lee E. Nimesulide-induced hepatotoxicity: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2019 Jan 24;14(1):e0209264. doi: 10.1371/journal.pone.0209264.
73. Lee W.M., Stravitz R.T., Larson A.M. Introduction to the revised American Association for the Study of Liver Diseases Position Paper on acute liver failure 2021. *Hepatology*. 2021;55(3):965-967. DOI: 10.1002/hep.25551
74. Lee W.M. Etiologies of acute liver failure. *Semin Liver Dis*. 2018;28(2):142-152. DOI: 10.1055/s-2008-1073114
75. Li J. and co-authors. Influences of ABC transporter and CYP3A4/5 genetic polymorphisms on the pharmacokinetics of lenvatinib in Chinese healthy subjects // *European journal of clinical pharmacology*. 2020. 76(8):1125-1127.

76. Li X, Ni J, Chen L. Advances in the study of acetaminophen-induced liver injury. *Front Pharmacol* 2023;14. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2023.1239395>.
77. Li, D., Zhou, X., Chen, J., Wang, F., & Chen, L. Comparison of safety of acetaminophen and ibuprofen in minors: based on the FAERS database. *Expert Opinion on Drug Safety*, (2024) 24(1), 89–97. <https://doi.org/10.1080/14740338.2024.2348614>
78. Lin BL, Chen JF, Qiu WH, Wang KW, Xie DY, Chen XY, et al. Allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stromal cells for hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure: A randomized controlled trial. *Hepatology* 2017;66:209–19. <https://doi.org/10.1002/HEP.29189>.
79. Lucena M.I., Kaplowitz N., Hallal H., et al. Recurrent drug-induced liver injury (DILI) with different drugs in the Spanish Registry: the dilemma of the relationship to autoimmune hepatitis. *J Hepatol.* 2011;55:820-827. DOI: 10.1016/j.jhep.2010.12.041
80. Maharaj R., Pingitore A., Menon K., et al. MDMA-induced acute liver failure and transient abdominal pneumatosis. *Am J Gastroenterol.* 2015;110:963. DOI: 10.1038/ajg.2014.399
81. Mücke MM, El Bali N, Schwarzkopf KM, Uschner FE, Kraus N. The Role of Hypoxia-Inducible Factor 1 Alpha in Acute-on-Chronic Liver Failure. *Int J Mol Sci.* 2024 Jan 26;25(3):1542. doi: 10.3390/ijms25031542. PMID: 38338821; PMCID: PMC10855542.
82. Manka P., Bechmann L.P., Coombes J.D. Hepatitis E virus infection as a possible cause of acute liver failure in Europe. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2015;13:1836-1842. DOI: 10.1016/j.cgh.2015.04.014
83. Mirzakulov A. G., Urazmetova M. D., Khadjibaev F. A. The Effect of Human Embryonic Hepatocytes on Biochemical Indices at Acute Hepatic Failure in the Experiment // *American Journal of Medicine and Medical Sciences*, 2019 9(1), p. 20-27. IF 1,96
84. Munoz S.J., Stravitz R.T., Gabriel D. Coagulopathy of acute liver failure. *Clin Liver Dis.* 2009;13:95-107. DOI: 10.1016/j.cld.2008.10.001

85. Nakamoto S., Kanda T., Nakaseko C., et al. Reactivation of hepatitis B virus in hematopoietic stem cell transplant recipients in Japan: efficacy of nucleos(t)ide analogues for prevention and treatment. *Int J Mol Sci.* 2014;15:21455-21467. DOI: 10.3390/ijms151121455
86. Niewiński G, Morawiec S, Janik MK, Grąt M, Graczyńska A, Zieniewicz K, Raszeja-Wyszomirska J. Acute-On-Chronic Liver Failure: The Role of Prognostic Scores in a Single-Center Experience // *Med Sci Monit.* 2020 May 16;26:e922121. doi: 10.12659/MSM.922121. PMID: 32415953; PMCID: PMC7249742.
87. Oketani M., Ido A., Tsubouchi H. Changing etiologies and outcomes of acute liver failure: A perspective from Japan. *J Gastroenterol Hepatol.* 2021;26(1):65-71. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06574.
88. Peters D.J., Greene W.H., Ruggiero F., et al. Herpes simplex induced fulminant hepatitis in adults: a call for empiric therapy. *Dig Dis Sci.* 2010;45:2399-2404. DOI: 10.1023/A:1005699210816
89. Peron J.M., Dalton H.R., Izopet J., Kamar N. Acute autochthonous hepatitis E in western patients with underlying chronic liver disease: a role for ribavirin? *J Hepatol.* 2011;54:1323-1324. DOI: 10.1016/j.jhep.2011.01.009
90. Price B., Lines J., Lewis D., Holland N. Haemophagocytic lymphohistiocytosis: A fulminant syndrome associated with multiorgan failure and high mortality that frequently masquerades as sepsis and shock. *S Afr Med J.* 2014;104:401-406. DOI: 10.7196/samj.7810
91. Polson J., Lee M.W. AASLD Position Paper: The Management of Acute Liver Failure. *Hepatology.* 2005;36:1179-1197. DOI: 10.1002/hep.20703
92. Ronan B.A., Agrwal N., Carey E.J., et al. Fulminant hepatitis due to human adenovirus. *Infection.* 2014;42(1):105-111. DOI: 10.1007/s15010-013-0527-7
93. Reuben A., Koch D.G., Lee W.M. Drug-induced acute liver failure: results of a U.S. multicenter, prospective study. *Hepatology* 2010;52:2065-2076. DOI: 10.1002/hep.23937

94. Roales-Gomez V., Molero A.I., Perez-Amarilla I., et al. DRESS syndrome secondary to ibuprofen as a cause of hyperacute liver failure. *Rev Esp Enferm Dig.* 2014;106:482-486
95. Ramappa V., Aithal G.P. Hepatotoxicity Related to Anti-tuberculosis Drugs: Mechanisms and Management. *J Clin Exp Hepatol.* 2013;3:3749. DOI: 10.1016/j.jceh.2012.12.001
96. Rule JA, Ajayi F, James LP, Tujios SR, Sussman NL, Rakela JL. Acute Liver Failure Study Group. Differentiating Ischemic Hepatitis from Acetaminophen Overdose in Acute Liver Failure: Role of Acetaminophen Adducts-Ischemic Hepatitis vs Acetaminophen Overdose. *Dig Dis Sci.* 2024 Oct;69(10):3952-3961. doi: 10.1007/s10620-024-08602-7. Epub 2024 Sep 2. PMID: 39222204.
97. Shah NJ, Royer A, John S. Acute Liver Failure. *StatPearls* 2023.
98. Schyman P, Printz RL, Pannala VR, AbdulHameed MDM, Estes SK, Shiota C, Boyd KL, Shiota M, Wallqvist A. Genomics and metabolomics of early-stage thioacetamide-induced liver injury: An interspecies study between guinea pig and rat. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2021 Nov 1;430:115713. doi: 10.1016/j.taap.2021.115713. Epub 2021 Sep 4. PMID: 34492290; PMCID: PMC8511347.
99. Singh S, Kumar PVS NK, Kumar JP, Tomo S, Yadav D, Sharma P, Rao M, Banerjee M. Genetic and Epigenetic Basis of Drug-Induced Liver Injury. *Semin Liver Dis.* 2023 May;43(2):163-175. doi: 10.1055/a-2097-0531. Epub 2023 May 24. PMID: 37225145.
100. Shah T, Joslyn JA, Lai J. Ceftazidime induced liver injury. *BMJ Case Rep.* 2021 Dec 9;14(12):e246571. doi: 10.1136/bcr-2021-246571. PMID: 34887294; PMCID: PMC8663094.
101. Shah J, Muir J, Furfaro D, Beitler JR, Dzierba AL. Use of N-Acetylcysteine for Clozapine-Induced Acute Liver Injury: A Case Report and Literature Review. *J Pharm Pract.* 2023 Apr;36(2):463-467. doi: 10.1177/08971900211034007. Epub 2021 Jul 20. PMID: 34284670.

102. Sherman M. Assessing Toxicity in Drug Trials in Liver Disease. *Semin Liver Dis.* 2021 Aug;41(3):277-284. doi: 10.1055/s-0041-1723030. Epub 2021 Mar 8. PMID: 34320681.
103. Sherif IO. Hepatoprotective effect of arjunolic acid against cisplatin-induced hepatotoxicity: Targeting oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *J Biochem Mol Toxicol.* 2021 Apr;35(4):e22714. doi: 10.1002/jbt.22714. Epub 2021 Jan 25. PMID: 33491850.
104. Skladaný Ľ, Janceková D, Vnenčáková J, Selčanová SA, Bystrianska N, Šváč J. Acute-on-chronic liver failure: a single-centre experience // *Clin Exp Hepatol.* 2020 Jun;6(2):92-98. doi: 10.5114/ceh.2020.96004. Epub 2020 Jun 10. PMID: 32728625; PMCID: PMC7380474.
105. Tiis R.P. and co-authors. N-acetyltransferase (NAT2) gene polymorphism and gene network analysis // *Биомедицинская химия.* Москва. 2021. 67(3):213-221. DOI: 10.18097/PBMC20216703213.
106. Terzi F, Ciftci MK. Protective effect of silymarin on tacrolimus-induced kidney and liver toxicity. *BMC Complement Med Ther.* 2022 Dec 13;22(1):331. doi: 10.1186/s12906-022-03803-x. PMID: 36514062; PMCID: PMC9746137.
107. Teschke R. Hepatotoxicity: Molecular Mechanisms and Pathophysiology // *Int J Mol Sci.* 2019 Jan 8;20(1):211. doi: 10.3390/ijms20010211.
108. Teschke R., Danan G. Drug induced liver injury with analysis of alternative causes as confounding variables // *Br J Clin Pharmacol.* 2018 Jul;84(7):1467-1477. doi: 10.1111/bcp.13593.
109. Tian ZZ, Zhou CX, Zhou W, Li M, Chu YP, Huai C, Qin SY. Analysis of time-series gene expression data to explore mechanisms of isoniazid-induced liver toxicity. *Yi Chuan.* 2022 Jun 20;44(6):501-509. doi: 10.16288/j.ycz.22-069. PMID: 35729098.
110. Tillmann HL, Rockey DC. Signatures in drug-induced liver injury. *Curr Opin Gastroenterol.* 2020 May;36(3):199-205. doi: 10.1097/MOG.0000000000000636. PMID: 32205565; PMCID: PMC10896173.

111. Todorović Vukotić N, Đorđević J, Pejić S, Đorđević N, Pajović SB. Antidepressants- and antipsychotics-induced hepatotoxicity. *Arch Toxicol*. 2021 Mar;95(3):767-789. doi: 10.1007/s00204-020-02963-4. Epub 2021 Jan 5. PMID: 33398419; PMCID: PMC7781826.
112. Tursunova NV, Syrov VN, Khushbaktova ZA, Tornuev YV, Klinnikova MG. Monooxygenase System and NO Metabolism in Liver Microsomes of Rats with Toxic Hepatitis and the Effect of Sesquiterpene Lactones. *Bull Exp Biol Med*. 2021 Dec;172(2):133-136. doi: 10.1007/s10517-021-05349-3. Epub 2021 Dec 2. PMID: 34853965.
113. Yao ZP, Li Y, Liu Y, Wang HL. Relationship between the incidence of non-hepatic hyperammonemia and the prognosis of patients in the intensive care unit. *World J Gastroenterol*. 2020 Dec 7;26(45):7222-7231. doi: 10.3748/wjg.v26.i45.7222.
114. Vasques Francesco, Cavazza,Anna, Bernal,William. Acute liver failure. *Current Opinion in Critical Care* 28(2):p 198-207, April 2022. | DOI: 10.1097/MCC.0000000000000923
115. Vaquero J., Chung C., Cahill M.E., et al. Pathogenesis of hepatic encephalopathy in acute liver failure. *Semin Liver Dis*. 2013;23:259269. DOI: 10.1055/s-2003-42644
116. Wang S, Lee JS, Hyun J, Kim J, Kim SU, Cha HJ, et al. Tumor necrosis factor-inducible gene 6 promotes liver regeneration in mice with acute liver injury. *Stem Cell Res Ther* 2015;6. <https://doi.org/10.1186/S13287-015-0019-Z>.
117. Zaccherini G., Weiss E., Moreau R. Acute-on-chronic liver failure: Definitions, pathophysiology and principles of treatment. *JHEP Rep*. 2020 Sep 2;3(1):100176. <http://doi.org/10.1016/j.jhepr.2020.100176>
118. Zhang X, Li Y, Wei X, Hou Y, Jia S, Li S, Zhao X. Metabolomics analysis of the effects of quercetin on hepatotoxicity induced by acrylamide exposure in rats. *Free Radic Res*. 2021 Jul;55(7):831-841. doi: 10.1080/10715762.2021.1950705. PMID: 34238086.

119. Skladaný L, Janceková D, Vnenčáková J, Selčanová SA, Bystrianska N, Šváč J. Acute-on-chronic liver failure: a single-centre experience // *Clin Exp Hepatol*. 2020 Jun;6(2):92-98. doi: 10.5114/ceh.2020.96004. Epub 2020 Jun 10. PMID: 32728625; PMCID: PMC7380474.
120. Yao ZP, Li Y, Liu Y, Wang HL. Relationship between the incidence of non-hepatic hyperammonemia and the prognosis of patients in the intensive care unit. *World J Gastroenterol*. 2020 Dec 7;26(45):7222-7231. doi: 10.3748/wjg.v26.i45.7222.
121. Vasques Francesco, Cavazza,Anna, Bernal,William. Acute liver failure. *Current Opinion in Critical Care* 28(2):p 198-207, April 2022. | DOI: 10.1097/MCC.0000000000000923
122. Vaquero J., Chung C., Cahill M.E., et al. Pathogenesis of hepatic encephalopathy in acute liver failure. *Semin Liver Dis*. 2013;23:259-269. DOI: 10.1055/s-2003-42644
123. Zaccherini G., Weiss E., Moreau R. Acute-on-chronic liver failure: Definitions, pathophysiology and principles of treatment. *JHEP Rep*. 2020 Sep 2;3(1):100176. <http://doi.org/10.1016/j.jhepr.2020.100176>

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ  
УЗБЕКИСТАН**

**РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ЭКСТРЕННОЙ  
МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ**

**ЦЕНТР РАЗВИТИЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ КВАЛИФИКАЦИИ  
МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ**

**ВОПРОСЫ ПАТОГЕНЕЗА, РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ,  
ПРОФИЛАКТИКИ И ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ ОСТРОЙ  
ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**

**(монография)**

Издательство «.....», Ташкент, 2025

**Главный редактор: .....**

Изд. лицензия: .....

Издательство «.....», г. Ташкент, ул. .... Подписано в печать

..... г. Формат 60x84<sup>1/16</sup>

Гарнитура Times New Roman. Усл. печ.л. 7,91

Тираж 500 экз. Заказ № .....

Отпечатано в типографии «.....».

г. Ташкент, ул. .... тел. ....

Лицензия: № ..... от ..... г.